



**HAL**  
open science

**Effet des propriétés mécaniques sur l'adhésion de microorganismes : comportement et réponse biologique d'Escherichia coli et de Candida albicans sur des biomatériaux hydratés et non hydratés de différentes élasticités**

Annabelle Vigué

► **To cite this version:**

Annabelle Vigué. Effet des propriétés mécaniques sur l'adhésion de microorganismes : comportement et réponse biologique d'Escherichia coli et de Candida albicans sur des biomatériaux hydratés et non hydratés de différentes élasticités. Biophysique [physics.bio-ph]. Université de Strasbourg, 2021. Français. NNT : 2021STRAE040 . tel-04213567

**HAL Id: tel-04213567**

**<https://theses.hal.science/tel-04213567v1>**

Submitted on 21 Sep 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

École doctorale Physique et Chimie-Physique

INSERM Unité 1121 Biomatériaux et Bioingénierie

**THÈSE** présentée par :

**Annabelle VIGUÉ**

soutenue le : **15/12/2021**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline / Spécialité : **Biophysique**

**Effet des propriétés mécaniques sur l'adhésion de  
microorganismes : comportement et réponse biologique  
d'*Escherichia coli* et de *Candida albicans* sur des  
biomatériaux hydratés et non hydratés de différentes  
élasticités**

**THÈSE dirigée par :**

**Mme Lydie PLOUX**

**Directrice de Recherche CNRS** – INSERM UMRS 1121  
Biomatériaux et Bioingénierie, *Université de Strasbourg*

**M. Dominique VAUTIER**

**Ingénieur de Recherche INSERM** – INSERM UMRS 1121  
Biomatériaux et Bioingénierie, *Université de Strasbourg*

**RAPPORTEURS :**

**Mme Karine GLINEL**

**Maître de Recherche FNRS** – Professeure – Ecole  
Polytechnique de Louvain, Institute of Condensed Matter and  
Nanosciences, *Université de Louvain*

**M. Grégory FRANCIUS**

**Directeur de Recherche CNRS** – Laboratoire de Chimie-  
Physique et Microbiologique pour les matériaux et  
l'environnement, *Université de Lorraine*

**EXAMINATEURS :**

**Mme Fouzia BOULMEDAIS**

**Directrice de Recherche CNRS** – Institut Charles Sadron,  
*Université de Strasbourg*

**M. Thierry JOUENNE**

**Directeur de Recherche CNRS** – Laboratoire Polymères  
Biopolymères Surfaces, *Université de Rouen*



# Remerciements

Il m'est très agréable de remercier les différents acteurs de ce travail ; ces quelques phrases sont pour vous.

Je remercie tout d'abord Pierre Schaaf et Philippe Laval de m'avoir accueillie dans leur unité de recherche.

Je suis très reconnaissante envers Karine Glinel et Grégory Francius d'avoir accepté le rôle de rapporteur.

Merci à Fouzia Boulmedais de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider mon jury de thèse.

Je remercie également Thierry Jouenne d'avoir accepté de faire partie du jury.

Enfin, à la frontière entre juges et partie, je remercie Lydie Ploux et Dominique Vautier qui m'ont accompagnée pendant ces trois années de thèse. Toujours de bon conseil toutes catégories confondues (scientifique, technique, pédagogique, culturelle ou même gastronomique), amoureuse des grands espaces ou champion de volley, tous deux se sont montrés tout à fait exceptionnels. Leur enthousiasme et leur vitalité ont contribué à installer une ambiance chaleureuse au sein de cette équipe.

J'ai également eu la joie de pouvoir collaborer avec Fabrice Richard et Yves Gaillard. Merci à eux d'avoir pris le temps de me faire visiter leurs locaux très vastes et très diversifiés, et de m'avoir expliqué avec méthodologie leurs expériences et leurs travaux concernant la mécanique appliquée.

Ces travaux sont également le fruit d'une collaboration avec Amine Ben Mlouka et Julie Hardouin, experts en analyse protéomique. Merci à eux pour leur réactivité, leur discussion éclairée pendant nos échanges, et leur grande patience pour la réception de certains colis capricieux.

Merci à Julia Panina de m'avoir orientée dans les expériences de PCR, et à Laurent Lagache pour la qualité de la prestation pour les porte-échantillons.

Mes meilleurs souvenirs de ces quelques années restent cependant liés à l'ambiance conviviale qui règne au laboratoire. Chacun a apporté à sa manière une petite touche à ce travail, et je les en remercie. Je remercie tout d'abord Sofi, qui par sa présence rend le café et l'ambiance au bureau tout de suite plus chaleureux ; merci à elle pour tous ces moments fortement sympathiques passés ensemble. Par ailleurs, au sein de la tribu du Leriche, j'ai eu le plaisir de partager une grande partie de mon labeur avec Youri, maître en l'art de l'AFM, pour qui scanner de l'eau n'est qu'une banalité ; merci à lui d'avoir été attentif et à l'écoute. Merci également à Vincent d'avoir pris part à ce jeu de scanner des surfaces aux propriétés mécaniques improbables, avec une patience sans faille et une grande passion. Une pensée pour Naji, qui possède des qualités indéniables pour faire du skate et du hounous. De manière plus délocalisée, car provenant d'une autre contrée nommée le CRBS, je remercie également Arielle pour ces moments de convivialité et pour ces sorties aquatiques ressourçantes. Merci

à Bernard pour sa rigueur et sa pédagogie à faire comprendre des choses complexes à l'aide d'une unique formule (magique).

Je suis reconnaissante à tous les autres membres (présents ou passés) du laboratoire de l'aide qu'ils ont pu m'apporter durant cette thèse. J'espère en produire une liste exhaustive : Claire M. (experte des gâteaux au daim dont tout le monde parle mais personne n'a pu en manger), Lauriane (dont la joie de vivre est rayonnante et contagieuse), Eloïse (avec qui les discussions sur la terrasse du Leriche ou ailleurs sont toujours un réel plaisir), Haseeb (« what? you don't want to kill bacteria? »), Julie, Christine, Eya, Jordan, Varvara, Ludivine, Éric, Davide, Claire H., François, Cosette, Marie-Hélène, Min, Amad, Florent, Lisa, Cynthia, Baptiste, Benjamin, Pulchérie, Engin, Merve, Florence, Jane, Christelle, Lorène et Morgane. Je rajoute quelques amis : Laurane, qui avec sa personnalité vive, joyeuse et entière rend les choses si vivantes. Merci à Lauriane et à Carole, c'est toujours une immense joie de pouvoir retrouver ces moments partagés en toute simplicité. Et merci à Céline, véritable pilier dans mon aventure de thèse et à plus grande échelle mon aventure dans le Grand Est, pour laquelle je souhaite le meilleur.

Je remercie enfin mes parents, ma sœur, mon frère et ma famille qui m'ont constamment soutenue le long de mon parcours. J'emprunte à Victor Hugo ces quelques phrases, légèrement modifiées pour l'occasion : « Je crois toujours mon cœur quand il parle de vous. Mais que faut-il donc que ce cœur souhaite ? Des trésors ? Des honneurs ? Des trônes ? Non, ma foi ! Mais un bonheur égal au mien quand je vous vois. ».

Cette thèse fut une expérience professionnelle très enrichissante, mais également humaine avec de belles rencontres, qui pour certaines, je l'espère, dureront dans le temps. Adrien, laissons le temps au temps, et en attendant, faisons passer le temps ensemble. Et merci. De quoi ? De tout.

# Table générale des matières

<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>1</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>3</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>5</b>
<b>Introduction générale</b> .....	<b>7</b>
<b>Chapitre 1. Etat de l'art</b> .....	<b>11</b>
1. Introduction à la colonisation microbienne.....	13
2. Les biofilms bactériens et fongiques .....	24
3. Facteurs et stratégies influençant la formation de biofilm .....	35
4. Conclusions et orientation du sujet de thèse .....	55
<b>Chapitre 2. Matériels et méthodes</b> .....	<b>61</b>
1. Synthèse des biomatériaux.....	63
2. Caractérisation des biomatériaux.....	66
3. Etudes de l'interaction microorganismes-matériaux .....	71
4. Etudes du mécanisme d'adhésion bactérienne et fongique .....	83
<b>Chapitre 3. Article : "Limited diffusion and delayed biofilm formation by <i>Escherichia coli</i> on soft hydrated hyaluronic acid substrates"</b> .....	<b>89</b>
1. Introduction .....	91
2. Article.....	93
3. Travaux complémentaires .....	164
4. Conclusion .....	174
<b>Chapitre 4. Comportements des levures adhérees à des substrats aux propriétés mécaniques variables</b> .....	<b>179</b>
1. Introduction .....	181
2. Etude de l'influence des propriétés mécaniques du substrat sur l'adhésion et la mobilité de <i>C. albicans</i> .....	182
3. Conclusion .....	187
<b>Conclusion générale et perspectives</b> .....	<b>189</b>
<b>Résumé de thèse</b> .....	<b>199</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>203</b>
1. Liste des publications.....	204
2. Participation à des conférences internationales .....	204
3. Liste des modules d'enseignement .....	205
4. Liste des encadrements .....	205
5. Formation « Nouveau Chapitre de Thèse » .....	205

<b>Références</b>	<b>213</b>
-------------------	------------

## Liste des abréviations

### Micro-organismes

<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ExPEC	<i>Escherichia coli</i> extra-intestinales
InPEC	<i>Escherichia coli</i> intestinales

### Molécules biologiques, assemblages de molécules biologiques, et phénomènes biologiques

ADN	Acide désoxyribonucléique
AHL	Autoinducteur de type I
AI-2	Autoinducteur de type II
Als	Séquence de type agglutine
ARN	Acide ribonucléique
ConA	Concanavoline A
MEC	Matrice extra-cellulaire
eDNA	ADN extracellulaire
EPS	Substances polymériques extracellulaires
GAG	Glycosaminoglycane
HA	Acide hyaluronique
MEC	Matrice extra-cellulaire
QS	Quorum sensing
QQ	Quorum quenching
rARN	Acide ribonucléique ribosomique

### Molécules inorganiques, produits de culture microbiologique et réactifs

BDDE	1,4-Butanediol diglycidyl ether
EtOH	Ethanol
FeSO <sub>4</sub>	Sulfate ferreux
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Phosphate de monopotassium
LB	Milieu « lysogeny broth »
M63	M63G sans glucose et sans vitamine B1
M63+	M63 avec vitamine B1
M63G	M63 avec vitamine B1 et avec glucose
MgSO <sub>4</sub>	Sulfate de magnésium
NaOH	Hydroxyde de sodium
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfate d'ammonium
PBS	Tampon phosphate salin
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PFA	Paraformaldéhyde



SAB  
Vitamine B1

Milieu Sabouraud  
Thiamine

### Techniques

ANOVA  
AFM  
HPLC

Analyse de variance  
Microscopie à force atomique  
Chromatographie en phase liquide à haute performance

MCB  
MEB  
MET  
MIC  
PSM

Concentration minimale bactéricide  
Microscopie électronique à balayage  
Microscopie électronique à transmission  
Concentration minimale inhibitrice  
Poste de sécurité microbiologique

### Unités et symboles

°C  
Da  
E  
eV  
G  
G'  
G''  
h  
K  
min  
DO  
Pa  
s  
V

Degré Celsius  
Dalton  
Module d'Young  
Electron-volt  
Module de cisaillement  
Module de conservation  
Module de perte  
Heure  
Kelvin  
Minute  
Densité optique  
Pascal  
Seconde  
Volt

### Autres

DM  
HAS  
UV

Dispositif médical  
Haute Autorité de Santé  
Rayonnement ultraviolet

# Liste des figures

## Chapitre 1

Figure 1 : Formation de biofilms microbiens dans divers environnements.....	20
Figure 2 : Plasticité morphologique de <i>C. albicans</i> .....	30
Figure 3 : Etapes de formation d'un biofilm bactérien. ....	31
Figure 4 : Mécanismes de motilité et de mobilité bactérienne.. ....	37
Figure 5 : Schématisation d'un angle de contact .....	42
Figure 6 : Paramètres surfaciques d'un matériau pouvant influencer l'adhésion microbienne .....	48
Figure 7 : Mécanismes du quorum sensing bactérien et des différentes stratégies de quorum quenching. ....	53
Figure 8 : Les modules d'élasticité de différents tissus.....	57

## Chapitre 2

Figure 9 : Représentation d'une boîte Ibidi® avec un coating de PDMS.....	63
Figure 10 : Préparation de PDMS birigidité.....	65
Figure 11 : Schématisation des plateaux d'un rhéomètre .....	66
Figure 12 : Schématisation du nanoindenteur Chiaro .....	67
Figure 13 : Types de mouillages.....	69
Figure 14 : Mesure d'angle de contact sur 10% HA/BDDE.....	69
Figure 15 : Représentation d' <i>E. coli</i> SCC1. ....	72
Figure 16 : Représentation de <i>C. albicans</i> sous sa forme unicellulaire arrondie .....	73
Figure 17 : Représentation du fonctionnement d'un microscope confocal .....	76
Figure 18 : Etapes de production des matériaux d'hydrogels HA (A) et de PDMS (B) jusqu'aux étapes de rinçage .....	78
Figure 19 : Exemples d'acquisition 3D de biofilms d' <i>E. coli</i> sur verre et sur hydrogel HA .....	83

## Chapitre 3

Figure 20 : Chemical structures of PDMS and HA polymers .....	103
Figure 21: Example of the trajectory of a bacterium and schematic definition of $d_{net}$ and $d_{tot}$ .....	109
Figure 22: Topographic properties of the material surfaces .....	115
Figure 23 : Elastic properties of the material surfaces .....	119
Figure 24: Schematic summary of the reported studies related to the elasticity modulus values of materials considered for studying the impact of surface viscoelasticity on bacterial adhesion, retention or/and biofilm formation .....	120
Figure 25 : Bacterial adhesion, retention and biofilm formation on the HA and PDMS materials .....	125
Figure 26 : Mobility of bacterial cells on HA and PDMS materials.....	128
Figure 27 : Results of the modeling of $m = 50$ bacterial subpopulations on a 1:5 PDMS sample and $m = 10$ bacterial subpopulations on PDMS and HA hydrogel materials. ....	131
Figure 28 : Summary of the influence of the surface PDMS and HA elasticity and hydration levels on the protein abundance in <i>E. coli</i> proteome, and the mobility and biofilm development of the <i>E. coli</i> sessile populations.....	141

Figure 29 : Photographs of one typical sample of each HA and PDMS material .....	153
Figure 30 : Photographs of a typical 12 mm diameter made-home sample-holder .....	153
Figure 31 : Typical survey and high-resolution XPS spectra for HA and PDMS materials .....	154
Figure 32 : Results of rheometry measurements.....	156
Figure 33 : Schematic representation of the dewetting process during washing of the material samples with complete retrieval of the liquid medium .....	158
Figure 34 : Estimation of the indentation of a bacterium on a substrate .....	159
Figure 35 : Examples of mean square displacement (MSD).....	160
Figure 36 : Estimation of bacterial speed in the simulated populations.....	161
Figure 37 : Fraction of <i>E. coli</i> expressing curli related to the total population adhered on PDMS ....	162
Figure 38 : Graphical abstract .....	163
Figure 39 : Dénombrement d' <i>E. coli</i> SCC1 sur PDMS et HA .....	165
Figure 40 : Méthode d'acquisition des images et hétérogénéité de la densité de population d' <i>E. coli</i> SCC1 dans les boîtes de culture Ibidi® .....	167
Figure 41 : Taux de recouvrement d' <i>E. coli</i> SCC1 sur des substrats PDMS dans les boîtes de cultures Ibidi® .....	168
Figure 42 : Exemples de représentations graphiques de trajectoires bactériennes visualisées sur 40 s sur PDMS et HA.....	170
Figure 43 : Fractions de bactéries <i>E. coli</i> SCC1 mobiles vivantes et inertes.....	173

#### Chapitre 4

Figure 44 : <i>C. albicans</i> sur une boîte de culture Ibidi® avec un coating de PDMS. ....	183
Figure 45 : Taux de recouvrement de <i>C. albicans</i> sur des substrats des boîtes de cultures Ibidi® .....	184
Figure 46 : <i>C. albicans</i> adhesion on HA and PDMS substrates.....	186

#### Conclusions et perspectives

Figure 47 : PDMS bi-rigidité .....	192
Figure 48 : Images MEB de bactéries <i>E. coli</i> PHL 1270 sur lamelle de verre et hydrogel.....	194
Figure 49 : Identification des gènes cibles pour l'étude génomique d' <i>E. coli</i> .....	195
Figure 50 : <i>E. coli</i> SCC1 dans capillaire microfluidique sans application de flux .....	197

#### Résumé

Figure 51 : Représentation d'une bactérie venant à la surface d'un biomatériau .....	201
--	-----

# Liste des tableaux

## Chapitre 1

Tableau 1 : Liste non exhaustive des espèces impliquées dans diverses infections humaines impliquant des biofilms microbiens.....	21
Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques des liaisons silicium-oxygène et carbone-carbone .....	58

## Chapitre 3

Tableau 3: Review of published works about the influence of surface viscoelasticity on bacterial adhesion and biofilm growth on agarose hydrogels, PDMS materials and other materials .....	99
Tableau 4 : Chemical composition of the PDMS and HA material surfaces.....	116
Tableau 5 : Differentially expressed proteins in <i>E. coli</i> sessile cells on PDMS materials .....	136
Tableau 6 : Differentially expressed proteins in <i>E. coli</i> sessile cells on HA materials .....	139
Tableau 7 : Mass measurements of room-hydrated, fully hydrated and dehydrated HA and PDMS	151
Tableau 8 : Typical results of modeling of $\Phi$ function with m=10 material sample of each type .....	152



## Introduction générale

Les infections nosocomiales, ou « infections liées aux soins », représentent une grande part des infections médicales (Wenzel 2007 ; Deniau et al. 2019). Elles sont produites par des agents pathogènes infectieux qui se développent au sein d'un hôpital ou d'autres centres de soins de santé et qui sont acquis par les patients lors de leur passage dans ces institutions. Il est évalué qu'environ un patient hospitalisé sur vingt y a été confronté en France en 2017 (Santé Publique France 2019). Le ministère de la Santé estime que les infections nosocomiales sont responsables de près de 4000 décès chaque année en France. Toujours selon le ministère de la Santé, les résistances microbiennes seraient responsables dans le monde de 700 000 morts par an. Les infections nosocomiales représentent donc une proportion significative des maladies infectieuses humaines. L'importance de ce problème mondial a conduit la plupart des hôpitaux à consacrer des ressources importantes au développement de méthodes et de programmes pour la surveillance, la prévention et le contrôle des infections nosocomiales.

Etant donné qu'une grande partie des infections nosocomiales sont dues à des bactéries, le traitement de choix est le recours aux antibiotiques. Cependant, les bactéries soumises à ces traitements de manière répétée développent des mécanismes pour y résister (phénomène d'antibiorésistance) : mutation de gènes, sécrétions de composés inactivant les antibiotiques, etc... Ainsi, ces infections deviennent de plus en plus difficiles à éradiquer et nécessitent la mise au point de nouveaux traitements efficaces. L'un des principaux contributeurs à l'antibiorésistance et à la contamination de surfaces médicales est le biofilm bactérien (Bjarnsholt 2013). Les biofilms sont des systèmes biologiques fixés à la surface d'un matériau et composés de communautés de microorganismes organisées et coordonnées, intégrées dans une matrice extracellulaire (MEC) protectrice formée de polysaccharides et d'autres biomolécules (R. M. Donlan 2002).

La plupart des recherches vise à mettre au point de nouveaux antibiotiques, et de façon globale, les travaux s'orientent vers de nouveaux moyens de prévenir et de guérir ces infections. Ce mot « prévenir » prend particulièrement son sens dans le cadre de cette thèse, car les travaux de cette thèse cherchent à limiter initialement la venue de microorganismes

pionniers sur la surface de dispositifs médicaux (DM), pour limiter ensuite leur développement et par conséquent diminuer les risques d'infection.

Récemment, une nouvelle stratégie préventive a été proposée pour modifier significativement la colonisation bactérienne : celle-ci repose sur le *design* des propriétés mécaniques du matériau sur lequel les microorganismes pionniers pourraient venir adhérer. L'élasticité du matériau semble en effet être un paramètre prometteur pour limiter l'adhésion de microorganismes. Selon la littérature, la corrélation entre l'élasticité de surface d'un matériau et l'adhésion bactérienne a été mise en évidence avec des réductions significatives de la colonisation sur des revêtements siliconés aux modules d'Young supérieurs au MPa (Song et Ren 2014 ; Straub et al. 2019 ; Song et al. 2018) et sur les revêtements hydratés aux plus faibles modules d'Young (entre quelques dizaines de Pa et du MPa) (Zolk et al. 2000 ; Bakker et al. 2003 ; Lichter et al. 2008 ; Cottenye et al. 2012 ; Saha et al. 2013 ; Guégan et al. 2014 ; Kolewe, Peyton, et Schiffman 2015 ; Keskin et al. 2019). Par extension, l'hydratation semble être un paramètre clé à prendre en compte dans les phénomènes d'adhésion microbienne. En effet, de nombreuses études ont été menées pour caractériser la dynamique et la structure des eaux à l'interface avec la surface et leur corrélation avec des propriétés *antifouling*, c'est-à-dire limitant l'adhésion de microorganismes (Motomu Tanaka et Sackmann 2005 ; Masaru Tanaka et al. 2000 ; 2002 ; Morisaku et al. 2008 ; Fick et al. 2004). Il est supposé que la capacité répulsive des matériaux hydrophiles soient étroitement corrélées avec la couche d'hydratation près de la surface (J. Zheng et al. 2005 ; Herrwerth et al. 2003 ; S. Chen et al. 2000), car cette couche d'eau liée formerait une barrière physique et énergétique qui empêcherait l'absorption de protéines ou de microorganismes à sa surface. Toutefois, une différence apparente existe dans la tendance générale observée entre les quantités de bactéries adhérentes sur les matériaux hydrophobes siliconés et sur les hydrogels. Cependant, les résultats ont été fournis séparément et avec des approches expérimentales différentes. Une publication évoque également le rôle de la viscosité (Valentin et al. 2019), dans laquelle il a été démontré qu'une augmentation de la viscosité d'un substrat PDMS favorisait non seulement l'adhésion bactérienne, mais conférait également une plus grande résistance des bactéries à la désorption contre la contrainte de cisaillement due à un flux. Ces études portent principalement sur des colonisations à court terme (c'est-à-dire des temps considérés comme des temps d'adhésion, d'une durée d'environ 3 h) et les conséquences à

long terme sur la formation de biofilm sont plus rarement étudiées. De plus, la mobilité bactérienne ainsi que les mécanismes biologiques sous-jacents impliqués dans ces phénomènes ne sont rapportés dans la littérature que de façon incomplète par des travaux de deux équipes, à savoir ceux de Song et al. en 2017 et en 2018 (Song et al. 2018 ; 2017) et de Straub et al. en 2019 (Straub et al. 2019). Par ailleurs, les travaux publiés ne se concentrent que sur le modèle bactérien : l'influence des propriétés mécaniques sur les champignons et les levures reste encore inconnue. Les infections fongiques sont pourtant fréquentes, difficiles à enrayer et leurs conséquences peuvent se révéler dramatiques chez des patients déjà très affaiblis par une maladie ou un traitement (Gangneux, Camus, et Philippe 2008 ; Fabry 2011).

Les travaux de ma thèse cherchent ainsi à étudier les comportements bactériens et fongiques sur des substrats siliconés (non hydratés) et sur des substrats hydrogels (hydratés) à élasticité variable en terme d'adhésion, de mobilité, de formation de biofilm et de mécanismes biologiques sous-jacents. Ces recherches fondamentales, mais à visée appliquée, ont pour but de mieux comprendre le comportement des microorganismes adhérents sur des surfaces à élasticité et à hydratation variables, pour ensuite pouvoir cibler des matériaux avec un couple élasticité/hydratation adéquate, qui pourraient ensuite servir au développement de nouveaux biomatériaux pour des DM peu sensibles aux infections.

Ce manuscrit sera organisé en 4 chapitres. Le **Chapitre 1** fera un état des lieux de la formation de biofilms microbiens, avec une attention particulière aux biofilms formés dans le domaine de la santé. Le choix des matériaux, leurs propriétés mécaniques, particulièrement les paramètres d'élasticité et d'hydratation, et leur potentiel dans la limitation d'adhésion et de formation de biofilm seront discutés.

Le **Chapitre 2** sera dédié à la description des matériaux utilisés, des souches choisies et de leur culture, des méthodes utilisées pour générer et analyser les données, ainsi que des appareils de mesure et d'observation utilisés dans ces travaux.

Le **Chapitre 3** présentera les résultats de l'adhésion, de la formation de biofilm, de la mobilité ainsi que du protéome d'*Escherichia coli* en fonction des propriétés d'élasticité et d'hydratation du substrat. Il inclura un article scientifique, nommé « Limited diffusion and delayed biofilm formation by *Escherichia coli* on soft hydrated hyaluronic acid substrates », et en cours de soumission au journal « Biomaterials ». Cet article sera précédé d'une



introduction et suivi d'une partie décrivant les perspectives des travaux réalisés, ainsi que d'une conclusion.

Le **Chapitre 4** s'articulera autour d'aspects similaires mais chez un autre microorganisme, à savoir la levure *C. albicans*, un autre agent pathogène très présents dans les problématiques d'infections de surfaces médicales, et dont la littérature concernant l'influence de l'élasticité et de l'hydratation des substrats sur l'adhésion est quasi-inexistante.

Pour finir, ce manuscrit de thèse se terminera par une partie « Conclusion générale et Perspectives », suivies des références bibliographiques. Des annexes sont fournies pour exposer des informations complémentaires.

# Chapitre 1. Etat de l'art

<b>Chapitre 1. Etat de l'art</b> .....	<b>11</b>
1. Introduction à la colonisation microbienne .....	13
1.1. Préambule.....	13
1.2. Quels sont les domaines touchés et les impacts de la colonisation de surface ?.....	15
1.3. Quels sont les pathogènes rencontrés dans le domaine médical ? .....	20
1.4. Sur quels matériaux sont-ils rencontrés dans le domaine de la santé ?.....	22
2. Les biofilms bactériens et fongiques.....	24
2.1. Introduction : des animacules aux communautés microbiennes .....	24
2.2. La formation des biofilms bactériens et fongiques .....	25
2.2.1. Transport des microorganismes vers les surfaces et initiation du biofilm .....	25
2.2.2. Structuration du biofilm.....	28
2.2.3. Hétérogénéité du biofilm mature .....	29
2.2.4. Détachement et dispersion du biofilm .....	30
2.3. Avantages et conséquences du mode de vie en biofilm.....	31
2.3.1. Echanges d'informations au sein du biofilm .....	31
2.3.2. Protection vis-à-vis de stress environnementaux.....	34
3. Facteurs et stratégies influençant la formation de biofilm .....	35
3.1. Facteurs impactant la formation de biofilm .....	35
3.1.1. Les propriétés des microorganismes.....	35
3.1.2. Les matériaux.....	40
3.1.3. Autres facteurs extérieurs.....	48
3.2. Stratégies de lutte contre la formation de biofilm.....	50
3.2.1. Stratégies curatives : utilisation d'agents bactéricides et fongicides.....	51
3.2.2. Stratégies préventives : agir avant l'installation des microorganismes pionniers ....	53
3.2.3. Stratégies hybrides.....	54
4. Conclusions et orientation du sujet de thèse.....	55
4.1. Contexte du travail de thèse.....	55
4.2. Objectif et plan de la thèse.....	60



## 1. Introduction à la colonisation microbienne

### 1.1. Préambule

Un des aspects les plus fascinants et les plus attrayants du monde microbien est son extraordinaire diversité. En effet, ces microorganismes diffèrent par leurs formes, leurs dimensions, leurs physiologies ou encore leurs modes de vie. Cette richesse microbienne est mise à profit dans de nombreuses applications industrielles aujourd'hui, mais est, toutefois, également associée à un problème de santé publique au niveau national et international, l'antibiorésistance (Ferri et al. 2017).

L'antimicrobiorésistance est le phénomène qui consiste pour des microorganismes à devenir résistants à des agents antimicrobiens. Les microorganismes exposés aux antimicrobiens évoluent et développent des mécanismes de défense qui leur permettent de résister à l'action antimicrobienne. Quand les microorganismes concernés sont des bactéries, on parle d'antibiorésistance. Lorsque la résistance s'est développée chez une espèce microbienne, elle peut être transmise à d'autres espèces, et ainsi contribuer à l'expansion du phénomène et à sa diffusion (Lerminiaux et Cameron 2019).

Pour contextualiser le phénomène d'antibiorésistance avec des chiffres, il a été vendu en France 728 tonnes d'antibiotiques destinés à la santé humaine (contre 471 tonnes d'antibiotiques destinés à la santé animale) en 2018 (Santé Publique France 2018). L'exposition excessive aux antibiotiques participe directement à la progression des résistances microbiennes avec pour corollaire une réduction de l'arsenal thérapeutique disponible, pouvant conduire à des impasses thérapeutiques lors de colonisation<sup>1</sup>, de contaminations<sup>2</sup> et d'infections<sup>3</sup> de DM (Ashraf et Cook 2016 ; Sabtu, Enoch, et Brown 2015 ; Stein et al. 2018 ; Acar et Moulin 2012). L'émergence récente de levures résistantes à plus d'une classe de médicaments antifongiques est une grave préoccupation. Actuellement, seules trois classes primaires d'agents sont utilisées pour traiter les infections fongiques invasives : les polyènes (par exemple, l'amphotéricine B) ; les azoles (par exemple, le fluconazole) et les échinocandines (par exemple, la caspofungine) (Krysan 2017). En comparaison, six classes

---

<sup>1</sup> Colonisation : présence de microorganismes sans infection associée.

<sup>2</sup> Contamination : introduction ou présence de microorganismes indésirables dans un milieu, dans le corps humain.

<sup>3</sup> Infection : présence de microbes qui prolifèrent avec une réaction immunologique de la part de l'hôte qui à elle seule ne parvient pas à vaincre les microbes.

distinctes d'antibiotiques sont actuellement disponibles pour traiter le *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM), une bactérie pharmaco-résistante importante et répandue (Bassetti et al. 2019). Ainsi, la perte d'un médicament antifongique par résistance a un impact majeur sur les soins aux patients. Une politique de maîtrise de l'antibiorésistance menée depuis les années 2000 s'est vue être intensifiée en 2016 (par un programme interministériel de maîtrise de l'antibiorésistance, selon la démarche « One Health » recommandée en 2015 par l'Organisation Mondiale de la Santé) pour renforcer la sensibilisation du public, mieux utiliser les antibiotiques, davantage soutenir la recherche et l'innovation et, enfin, renforcer la surveillance et l'engagement de la France dans la lutte internationale contre l'antibiorésistance.

Les infections ou la colonisation de surface non désirés par des microorganismes posent de nombreux problèmes dans divers secteurs. Spécifiquement, dans le domaine médical, les infections communautaires et nosocomiales sont une cause importante de mortalité hospitalière (Klevens et al. 2007 ; Deniau et al. 2019). L'antibiothérapie précoce est la pierre angulaire du traitement de ces infections (Kollef et al. 2021).

Les contaminations des surfaces médicales proviennent principalement de la formation d'un biofilm microbien, un des principaux contributeurs à l'antibiomicrobiorésistance (Stubblings et Labischinski 2009). Les germes impliqués dans ces contaminations sont des levures, des virus, des protozoaires, ainsi que des bactéries, capables de développer des résistances face à aux traitements antimicrobiens (Sabtou, Enoch, et Brown 2015). Dans la suite de ce manuscrit, nous nous concentrerons exclusivement sur les bactéries et les levures, qui sont les deux modèles microbiologiques utilisés pour nos études expérimentales. Brièvement, une levure est un champignon ascomycète ou basidiomycète (ou autre, non rattaché à un groupe défini) unicellulaire, et une bactérie est un microorganisme procaryote présent dans tous les milieux sous des formes très variées. Une caractérisation importante des bactéries est la paroi cellulaire ; les bactéries peuvent être divisées en deux groupes : les bactéries à paroi unimembranée (ne contenant qu'une seule membrane, la membrane plasmique, nommées Gram positives) et les bactéries à paroi bimembranée (constituée de deux membranes superposées, la membrane interne et la membrane externe, appelées Gram négatives) (Figure 7). Les biofilms sous lesquels ces microorganismes se développent sont des systèmes biologiques fixés à la surface d'un matériau et composé de communautés de microorganismes

organisées et coordonnées, intégré dans une matrice extracellulaire (MEC) protectrice formée de polysaccharides et d'autres biomolécules. Les biofilms sont très difficiles à éradiquer, notamment en raison de la limitation de la diffusion des médicaments dans la matrice polymère (Venkatesan, Perumal, et Doble 2015 ; Høiby et al. 2010), ainsi que des états particuliers dans lesquels les bactéries peuvent entrer pour se protéger, comme l'état de dormance (Lewis 2007). Ainsi, le besoin de revêtements empêchant la colonisation bactérienne et de substrats bactéricides n'a jamais été aussi fort.

## 1.2. Quels sont les domaines touchés et les impacts de la colonisation de surface ?

Dans les milieux naturels ou artificiels, sur des surfaces biotiques ou abiotiques et si les conditions environnementales sont appropriées, le biofilm est le mode de vie microbien dominant. Le développement non désiré de biofilms entraîne de nombreux problèmes économiques et sanitaires. Nous nous proposons dans cette partie de lister les différents domaines touchés par la colonisation de surfaces de microorganismes.

**Impact sur la santé humaine** (Figure 1-A). Les biofilms microbiens suscitent un intérêt tout particulier dans le domaine de la santé car ils sont impliqués dans un large éventail d'infections chez l'Homme. En effet, chez l'Homme, les biofilms représentent jusqu'à 80% du nombre total d'infections microbiennes selon le National Institute of Health, y compris l'endocardite, la mucoviscidose, la parodontite, la rhinosinusite, l'ostéomyélite, les plaies chroniques non cicatrisantes, la méningite, les infections rénales et infections liées aux prothèses et aux dispositifs implantables (Paharik et Horswill 2016 ; Bjarnsholt 2013 ; Lia Rimondini et al. 2016 ; Irie et al. 2012 ; Gupta et al. 2016 ; Joo et Otto 2012 ; Veerachamy et al. 2014 ; Lorite et al. 2011 ; Chao et al. 2015; Büttner, Mack, et Rohde 2015). Par ailleurs, 60 à 70 % des infections nosocomiales sont attribuées à des infections par biofilm dans les DM implantables (Bryers 2008). Par exemple, dans le cas de *P. aeruginosa*, bactérie liée à l'infection des poumons des patients atteints de mucoviscidose, des biofilms se forment et annulent l'efficacité des antibiotiques (Høiby et al. 2010).

Les maladies associées au biofilm provoquent des centaines de milliers de décès chaque année, et le coût annuel de ces infections se chiffre en milliards de dollars (Bryers 2008). La difficulté à enrayer ces risques infectieux est notamment due à l'inflation de l'antibiorésistance. Selon l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), la surconsommation d'antibiotique en France engendre une dépense

supplémentaire pour le système de santé français, par rapport à nos voisins européens, qui varie de 70 à 440 millions d'euros par an.

Les biofilms sur les DM peuvent être composés de levures ou de bactéries Gram-positives ou Gram-négatives. Ces organismes peuvent provenir de la peau des patients ou du personnel de santé, des surfaces médicales ou d'autres sources environnementales. Les biofilms formés sur les dispositifs médicaux peuvent être formés d'une unique souche microbienne ou de plusieurs, en fonction du DM et de la durée d'utilisation. Les biofilms s'installant sur des cathéters urinaires peuvent initialement être composés d'une seule souche microbienne, mais une utilisation prolongée entraîne une diversification des espèces et des souches microbiennes incluses dans le biofilm (Stickler 1996).

*C. albicans* est l'une des espèces fongiques les plus fréquemment isolées d'infections fongiques cutanéomuqueuses et invasives, représentant 59 % des candidémies nosocomiales avec un taux de mortalité lié aux infections systémiques d'environ 50 % (Schulze et Sonnenborn 2009 ; Chin et al. 2016 ; Vargas-Blanco et al. 2017). De plus, environ 8 % des infections des implants sont associées à *C. albicans* (Lynch et Robertson 2008). La procédure habituelle, aujourd'hui, pour les infections à *C. albicans* associées aux implants consiste à retirer l'implant et à administrer un traitement antibiotique (Cobo et al. 2017).

Nous donnons ci-dessous, à titre d'exemple, des dispositifs médicaux sur lesquels des biofilms peuvent se former :

- **Biofilms sur cathéters veineux centraux.** Un cathéter veineux central est une tubulure introduite dans un tronc veineux important ; l'utilisation de ce dispositif est associée à un risque de colonisation et d'infections microbienne ultérieure (Gominet et al. 2017). Les organismes les plus couramment isolés des biofilms de cathéters sont *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, et *Enterococcus faecalis* (Elliott et al. 1997; Raad et al. 1992).
- **Biofilms sur valves cardiaques mécaniques.** Les micro-organismes peuvent se fixer et développer des biofilms sur les composants des valves cardiaques mécaniques et les tissus environnants du cœur, entraînant une affection connue sous le nom d'endocardite prothétique. Les principaux organismes responsables de cette condition sont *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, des bacilles Gram négatifs, des

diphthéroïdes, des entérocoques, et *Candida spp.* L'implantation de la valve cardiaque mécanique provoque des lésions tissulaires, et les plaquettes et la fibrine circulantes ont tendance à s'accumuler là où la valve a été fixée. Les microorganismes ont également plus tendance à coloniser ces emplacements (Carabello et Crawford 1997). Les biofilms résultants se développent plus fréquemment sur le tissu entourant la prothèse que sur la valve elle-même.

- **Biofilms sur cathéters urinaires.** Les cathéters urinaires sont des dispositifs tubulaires en latex ou en silicone qui, lorsqu'ils sont insérés, peuvent facilement acquérir des biofilms sur les surfaces interne et externe. Les organismes qui contaminent couramment ces appareils et développent des biofilms sont *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, et d'autres organismes Gram négatifs (Stickler 1996). Le pH élevé qui se produit à l'interface biofilm-urine entraîne la précipitation de minéraux tels que la struvite et l'hydroxyapatite. Ces biofilms contenant des minéraux forment des incrustations qui peuvent bloquer complètement la lumière interne du cathéter, menant à un échec de fonctionnalité du dispositif (Tunney, Jones, et Gorman 1999).

**Impact en santé animale.** Plusieurs espèces et genres de bactéries causant des infections chez l'animal, et ayant ou non un potentiel zoonotique, sont capables de former des biofilms (Tremblay, Hathroubi, et Jacques 2014). Nous pouvons notamment mentionner *Actinobacillus pleuropneumoniae*, qui provoque une pleuropneumonie sévère du porc qui est hautement contagieuse avec une morbidité et une mortalité élevées (Sassu et al. 2018), ou *Trueperella pyogenes*, un agent pathogène opportuniste provoquant une variété d'infections purulentes, telles que des métrites, des mammites, des pneumonies ou des abcès (Rzewuska et al. 2019). Ces microorganismes pathogènes présents sous la forme de biofilms sont retrouvés à différents endroits du cycle de production animalière, comme sur des surfaces à la ferme, à l'abattoir ou encore sur le site de transformation, d'où l'importance d'une mise en place et d'un suivi rigoureux d'un protocole de désinfection (Carrascosa et al. 2021). Certains de ces microorganismes pathogènes peuvent également être retrouvés dans les systèmes d'approvisionnement en eau du site d'exploitation agricole (Reeser et al. 2007) pouvant représenter une source continue de contamination des animaux. Par ailleurs, en aquaculture, les salissures marines encrassent les filets et les cages d'élevage (Bloecher, Olsen, et Guenther



2013). La circulation de l'eau est alors perturbée et le taux d'oxygène optimal pour le développement des poissons n'est pas maintenu.

**Impact sur l'eau et l'industrie navale.** Dans de nombreux domaines d'application comme celui de la distribution d'eau potable, le biofilm peut avoir un impact sur la surface sur laquelle il est adhérent, au-delà d'un simple encrassement dû à la colonisation. En effet, sur les surfaces métalliques, les biofilms peuvent provoquer et accélérer les réactions d'oxydoréduction à la surface des matériaux (Beech, Sunner, et Hiraoka 2005) en déplaçant l'équilibre des réactions. Ce phénomène, appelé biocorrosion, est à prendre en compte lors du développement de surfaces susceptibles d'être en contact avec des bactéries. On rencontre notamment les bactéries des genres *Flavobacteria*, *Deltaproteobacteria* et *Alphaproteobacteria* (Angelova et al. 2019). Parallèlement, la colonisation des surfaces immergées dans l'eau de mer par des organismes marins (bactéries, algues, mollusques, etc.) conduit à plusieurs effets négatifs pour l'industrie navale, tels qu'une détérioration accélérée des matériaux par la biocorrosion, et une augmentation de rugosité (induisant une augmentation de la résistance hydrodynamique) et de poids entraînant une surconsommation en carburant (et donc une augmentation des rejets de gaz à effet de serre) et une perte de manœuvrabilité (Lejars, Margailan, et Bressy 2012) (Figure 1-C). L'Armée Américaine a estimé que la présence de ces biofilms sur un navire de guerre s'élevait à une perte annuelle de 56 millions de dollars (Schultz et al. 2011). Par ailleurs, d'un point de vue écologique, les biofilms marins bouleversent l'écosystème marin par l'introduction d'espèces exotiques (Galil et al. 2019) pouvant devenir invasives.

**Impact sur l'industrie agroalimentaire.** Dans l'industrie alimentaire, outre le fait que les biofilms peuvent être à l'origine de dégradation des aliments entraînant des pertes économiques (Zara et al. 2020 ; Srey, Jahid, et Ha 2013), leur présence constitue un risque de contamination des aliments et donc un risque pour la santé des consommateurs, et peuvent être à l'origine de TIAC (Toxi Infection Alimentaire Collective) (Salo et Wirtanen 2005; Abebe 2020). Les microorganismes pathogènes peuvent être retrouvés sur des aliments non transformés ou transformés, frais, surgelés ou conservés, et sont capables de survivre voire de se développer dans des environnements divers, comme par exemple des températures basses de réfrigération, des pH acides, ou encore des hautes concentrations en sel (Webber et al. 2019 ; Yu et al. 2018 ; Phan-Thanh, Mahouin, et Aligé 2000 ; Lee, Choi, et Yoon 2014).

C'est notamment le cas de l'agent de la listériose, *Listeria monocytogenes*, qui résiste aux conditions associées à ces techniques de conservation alimentaire (Ferreira et al. 2014). Quant à *Campilobacter jejuni* et *E. coli*, ces pathogènes capables de former un biofilm sont responsables d'un grand nombre d'infections gastro-intestinales, et sont retrouvées notamment sur les surfaces d'équipement des usines de transformation (Peyrat et al. 2008 ; Teh, Lee, et Dykes 2014 ; Nesse et al. 2014). Par ailleurs, ces microorganismes peuvent se retrouver sur différentes surfaces dans l'industrie agroalimentaire, telles que dans les ateliers de production, sur les ustensiles, ou encore à l'intérieur même des circuits de nettoyage. Des nettoyages drastiques sont mis en place pour éliminer les traces de salissures sur les équipements et les matériaux en contact avec les aliments, mais peuvent se révéler inefficaces face à la protection assurée par le biofilm au dégraisage mécanique et à la diffusion de tensioactifs et autres détergents. Plusieurs espèces bactériennes intéressent particulièrement l'industrie agroalimentaire à cause de leur capacité à causer des infections ou des toxico-infections alimentaires chez l'Homme (Oliver, Jayarao, et Almeida 2005 ; Zhao et al. 2017). C'est le cas notamment des souches entérohémorragiques d'*E. coli* (*E. coli* O157:H7 notamment), dont le bœuf est le principal réservoir (Griffin et Tauxe 1991). Ces espèces microbiennes peuvent également s'associer à un biofilm déjà existant et ainsi profiter de la protection fournie (Sulaeman et al. 2010).

**Impact sur le patrimoine matériel culturel.** Les microorganismes sont également capables de coloniser et de produire des biofilms sur des bâtiments ou monuments historiques soumis à diverses conditions environnementales (Scheerer, Ortega-Morales, et Gaylarde 2009). Les constructions sont notamment affectées par les changements climatiques tels que les variations de température, de précipitations et de pollution de l'air, qui sont autant de paramètres environnementaux qui peuvent également influencer la formation des biofilms sur ces constructions. Par exemple, les polluants atmosphériques associés au changement climatique peuvent agir comme des sources propices au développement de microorganismes (X. Liu et al. 2020), ou à l'inverse peuvent inhiber la croissance microbienne (R. Mitchell et Gu 2000). D'autres paramètres peuvent également induire une augmentation de la prolifération bactérienne sur des surfaces culturelles. C'est notamment le cas dans les grottes, qui sont des environnements oligotrophes présentant une certaine stabilité de température, d'humidité

relative généralement élevée et d'absence de lumière, où l'anthropisation<sup>4</sup> est une source importante de perturbations pouvant favoriser la formation de biofilms microbiens (aménagements pouvant faire varier l'éclairage et la température, visites touristiques pouvant faire varier la température et les gaz atmosphériques, traitements chimiques, etc...) (Barton 2006 ; Ikner et al. 2007 ; Adetutu et al. 2011 ; Alonso et al. 2019). Dans la grotte de Lascaux (Figure 1-B), célèbre pour ses peintures et gravures rupestres, cette anthropisation a entraîné la prolifération de certains microorganismes et l'altération de paroi, menaçant la conservation de ce site paléolithique.



Figure 1 : Formation de biofilms microbiens dans divers environnements (A) Formation d'un biofilm de *Proteus mirabilis* adhérent sur un cathéter, image MEB (Jones et al. 2005); (B) De 1960 à 2017, des problèmes de conservation étaient observés sur les murs de la grotte de Lascaux ; ici, une photographie en juillet 2008 d'une peinture rupestre attaquée par des moisissures (crédit image : PIERRE ANDRIEU/AFP) ; (C) « Biofouling » sur une coque de bateau conduisant à une biocorrosion (Bordado 2014).

### 1.3. Quels sont les pathogènes rencontrés dans le domaine médical ?

Nous choisissons ici, comme pour les parties qui suivront, d'aborder uniquement la thématique de la colonisation de surfaces par des bactéries et des levures dans le domaine médical.

Certaines contaminations de DM peuvent être provoquées par des espèces bactériennes qui sont commensales au corps humain ou sont communs dans nos environnements. Par exemple, la bactérie cutanée *Staphylococcus epidermidis* et la bactérie aquatique *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) peuvent causer des infections chroniques chez les malades hôtes (Costerton 1999).

Les bactéries Gram-positives et Gram-négatives peuvent former des biofilms sur les dispositifs médicaux, mais les formes les plus courantes sont *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), *Streptococcus viridans*, *E. coli*,

<sup>4</sup> Processus par lequel les populations humaines modifient ou transforment l'environnement naturel.

*Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *P. aeruginosa* (R. Donlan 2001) (Table 1). Parmi elles, les souches uropathogènes d'*E. coli* sont à l'origine d'environ 80 % des infections des voies urinaires (Johnson et Stell 2000 ; Kaper, Nataro, et Mobley 2004). Par ailleurs, il existe des souches entéropathogènes d'*E. coli*, qui peuvent être classées en deux groupes : les *E. coli* intestinales (InPEC) et les *E. coli* extra-intestinales (ExPEC). Le groupe InPEC se compose de diverses souches d'*E. coli* productrices de toxines associés à la maladie de Crohn, aux syndromes entériques et hémorragie (Mirsepasi-Lauridsen et al. 2019). Le groupe ExPEC est une cause commune des infections des voies urinaires, de septicémies néonatales, de méningite chez l'Homme et diverses maladies infectieuses chez l'animal (Vogeleer et al. 2014). *E. coli* est également à l'origine de diverses infections associées aux DM. Notamment, la formation de biofilm par *E. coli* sur les cathéters peuvent provoquer des infections des voies urinaires, l'une des maladies nosocomiales les plus fréquentes (Reisner et al. 2014).

Contrairement à la vaste littérature décrivant les biofilms bactériens, peu d'attention a été accordée aux biofilms fongiques rencontrés dans le domaine médical. La prévalence des maladies fongiques est pourtant en augmentation avec l'augmentation des procédures de transplantations, des traitements immunosuppresseurs, de l'utilisation de DM implantables, etc... (Kojic et Darouiche 2004). Selon l'institut Pasteur, la levure la plus fréquemment rencontrée lors de telles infections appartient au genre *Candida*. L'espèce *C. albicans*, qui provoque à la fois des maladies superficielles et systémiques, est responsable d'environ la moitié des infections (Tsui, Kong, et Jabra-Rizk 2016 ; Institut Pasteur 2015). D'autres espèces fongiques, telles que *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis* sont également rencontrées dans les cas de candidoses (Silva et al. 2012). En plus d'un traitement antifongique, le retrait du DM colonisé est quasi-systématique. L'identification des espèces à l'origine de l'infection doit être réalisée pour adapter la prise en charge thérapeutique en raison de leur résistance à certains antifongiques. Même avec un traitement antifongique actuel, la mortalité des patients atteints de candidose peut atteindre 40% selon l'Institut Pasteur (Institut Pasteur 2015).

Tableau 1 : Liste non exhaustive des espèces impliquées dans diverses infections humaines impliquant des biofilms microbiens (Rimondini, Fini, et Giardino 2005).

Infection ou maladie	Espèce(s) microbienne(s) commune(s) formant un biofilm
Carie dentaire	Cocci à Gram positif acidogènes (ex., <i>Streptococcus</i> )
Periodontitis	Bactéries orales anaérobies à Gram négatif

Otites	Souches non typable d' <i>Haemophilus influenzae</i>
Infections musculo-squelettiques	Cocci à Gram positif (ex., <i>Staphylococci</i> )
Fasciite nécrosante	Streptocoques du groupe A
Infection des voies biliaires	Bactéries entériques (ex., <i>Escherichia coli</i> )
Ostéomyélite	Diverses espèces bactériennes et fongiques souvent mélangées
Prostatite bactérienne	<i>E. coli</i> et d'autres bactéries Gram négatives
Endocardite valvulaire native	Streptocoques du groupe Viridans
Pneumonie fibrose kystique	<i>P. aeruginosa</i> et <i>Burkholderia cepacia</i>
Mélioïdose	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
Pneumonie aux soins intensifs	Bactéries bâtonnets Gram-négatives
Sutures	<i>Staphylococcus epidermidis</i> et <i>S. aureus</i>
Sites de sorties	<i>S. epidermidis</i> et <i>S. aureus</i>
Shunts artérioveineux	<i>S. epidermidis</i> et <i>S. aureus</i>
Boucles Sclérales	Cocci à Gram-positif
Lentilles de contact	<i>P. aeruginosa</i> , cocci à Gram positif et levures
Cystite par cathéter urinaire	<i>E. coli</i> et autres bactéries bâtonnets Gram-négatives
Péritonite de dialyse péritonéale	Diverses bactéries et levures
Dispositifs intra-utérin	<i>Actinomyces israelii</i> entre autres
Sondes endotrachéales	Diverses bactéries et levures
Cathéters de Hickman	<i>S. epidermidis</i> et <i>C. albicans</i>
Cathéters veineux centraux	<i>S. epidermidis</i> et autres
Valves cardiaques mécaniques	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> et autres bactéries et levures
Blocage du stent biliaire	Diverses bactéries et levures
Appareils orthopédiques	<i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i>
Prothèses péniennes	<i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i>

#### 1.4. Sur quels matériaux sont-ils rencontrés dans le domaine de la santé ?

Un large éventail de matériaux est proposé pour la fabrication de pièces dans les domaines de l'agroalimentaire ou du biomédical. Ces matériaux se regroupent sous 4 grandes catégories : les métaux, les céramiques, les polymères et les composites. Ces matériaux peuvent être d'origine naturelle ou synthétique, dégradable ou non pour des applications temporaires ou permanentes. Des matériaux couramment rencontrés dans le secteur biomédical sont l'acier inoxydable (Disegi et Eschbach 2000), le titane (Niinomi 2008 ; Zanotti et al. 2016), le polytétrafluoroéthylène (téflon) (Patidar, Sydnor, et Sanyal 2014 ; Soldatos et al. 2017), l'hydroxyapatite (Zanotti et al. 2016 ; Attenello et Maas 2015), les résines époxy (Maghaireh, Taha, et Alzraikat 2017), le polycarbonate (Drobnič et al. 2019), le polyetheretherketone

(Zanotti et al. 2016 ; Bathala et al. 2019), le polypropylène (Maher et al. 2013 ; Bacci 1993), le verre (Khoroushi et Keshani 2013 ; Schott, Glass Made of Ideas), le polyuréthane (Bharadwaz et Jayasuriya 2020) ou encore le caoutchouc (Ahmad 2009). Ils sont nommés biomatériaux, et doivent respecter plusieurs obligations : être bien tolérés par le receveur, ne pas contenir de substances toxiques et répondre à des contraintes mécaniques. Par exemple, pour les biomatériaux métalliques, leur cahier des charges inclut une biocompatibilité et de fortes propriétés mécaniques (haute résistance mécanique et ténacité, essentielles pour les applications porteuses), un profil de corrosion contrôlé (haute inertie chimique et résistance à la corrosion pour les implants permanents et un profil de dégradation contrôlé pour les plateformes résorbables), une résistance élevée appropriée à l'usure (en particulier pour les pièces articulées), et l'ostéointégration (pour les implants interfacés avec les tissus osseux) (Gotman 1997; Joeris et al. 2017).

Avec le progrès des sciences des matériaux et le progrès concomitant de l'asepsie des procédures chirurgicales, des solutions plus adaptées physiquement, chimiquement, biologiquement et limitant les contaminations non désirées des surfaces de ces matériaux ont pu être proposées. L'émergence de nouveaux types de matériaux pour de nouvelles fonctionnalités médicales est aujourd'hui forte, comme en témoigne le large éventail de nouveaux matériaux à destination clinique (Woltman, Jay, et Crawford 2007 ; Jung et al. 2020 ; Xue et al. 2020 ; Feroz et al. 2020 ; Negri et al. 2020 ; Chen et al. 2020 ; Rezapour Sarabi et al. 2021). Cependant, peu de DM faits à partir de ces nouveaux matériaux atteignent le marché, et par conséquent les patients. Cela est majoritairement dû à un cadre réglementaire strict, et les produits ou systèmes développés doivent répondre à des normes spécifiques ciblant les performances attendues avant d'être mis sur le marché. Ces normes peuvent être nommées NF (normes françaises), EN (normes européennes) ou ISO (normes internationales). Par exemple, l'annexe 1 de la directive 93/42/CEE –aujourd'hui remplacée par le règlement 2017/745 relatif aux DM– dresse une liste des exigences essentielles auxquelles un fabricant d'un DM doit répondre, dont les matériaux choisis, quelle que soit la procédure de marquage CE choisie. Ces exigences dépendent de la classe du DM. Quant aux matériaux à vocation à entrer au contact de denrées alimentaires, leur choix repose sur différents règlements tel que le CE n°1935/200. Plus que sa capacité à limiter l'adhésion microbienne à sa surface, le matériau doit être apte à être nettoyé et nettoyable facilement selon ces textes. Or, un

matériau facilement nettoyable, stérile et biocompatible peut tout à fait être propice à l'adhésion de microorganismes à sa surface lors de son utilisation. Pourtant, des normes existent pour quantifier l'adhésion microbienne, telle que l'ISO 22196 :2011 (qui spécifie une méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne des plastiques et d'autres surfaces non poreuses en mesurant quantitativement la capacité du matériau à inhiber (effet bactériostatique) ou à tuer (effet bactéricide) la croissance des microorganismes sur une période de contact de 24 heures), mais elles ne sont pas référencées par ces règlements.

## 2. Les biofilms bactériens et fongiques

Nous nous intéressons ici aux étapes du processus de formation de ces biofilms, des facteurs influençant leur prolifération, ainsi que les techniques et stratégies existantes pour supprimer ou limiter leur développement.

### 2.1. Introduction : des animacules aux communautés microbiennes

Il y a plus de 300 ans, le commerçant et scientifique néerlandais Antoine Van Leeuwenhoek évoque pour la première fois des formes de vie minuscules incluses dans une matrice, le biofilm (Leeuwenhoek 1932). Il a gratté la plaque de ses propres dents et a étudié les échantillons à l'aide de microscopes fabriqués par lui-même. Il fit la première découverte importante des microorganismes, qu'il considérait comme de petits animaux, et qu'il nomma « animacules ». De ses découvertes, il écrivit :

*« Il y a plus d'animaux vivants dans l'écume sur les dents dans la bouche d'un Homme, qu'il y a d'Hommes dans tout un royaume ».*

Van Leewenhoek a fait une autre découverte importante. Après s'être rincé la bouche avec du vinaigre, il préleva un échantillon dentaire, l'analysa par microscopie, et constata que les organismes étaient toujours présents. Il effectua ensuite une expérience cruciale, mélangeant un échantillon dentaire avec du vinaigre, après quoi les organismes sont morts immédiatement. Il tira sa conclusion expérimentale :

*« Et de là j'en ai tiré la conclusion que le vinaigre, quand j'en ai rempli ma bouche, n'a pas pénétré à travers toute la matière qui est fermement logée entre les incisives ou les molaires, et n'a tué que les animacules qui étaient dans la partie la plus externe de la substance blanche ».*

Van Leewenhoek avait découvert, sans aucune connaissance de l'existence des bactéries, la vraie nature des biofilms, à savoir que les bactéries comprises dans un biofilm sont phénotypiquement distinctes des bactéries planctoniques (i.e. sous forme libre) d'une même espèce, et que la structure sous forme de biofilm procure une résistance particulière des bactéries, notamment à des agents antimicrobiens.

## 2.2. La formation des biofilms bactériens et fongiques

Les microorganismes sont naturellement présents dans notre environnement, en suspension dans des fluides plus ou moins complexes (air ou liquide), à l'état planctonique ou « fixés » sur une surface biotique (i.e. lié au monde vivant) ou abiotique (i.e. lié au milieu, indépendant du monde vivant). Les communautés pluricellulaires microbiennes sont le mode de vie naturel de la plupart des microorganismes (Costerton 1999), et les habitats colonisés, tout comme le monde microbien en lui-même sont divers et variés. La coexistence de ces microorganismes et leurs comportements coopératifs (Moons et al. 2005) ont pour effet l'apparition de nouvelles fonctions au sein de la communauté microbienne. Ces organisations sont nommées des biofilms, et sont caractérisées par la production d'une matrice extracellulaire (Figure 3).

### 2.2.1. *Transport des microorganismes vers les surfaces et initiation du biofilm*

Les cellules microbiennes sont transportées vers les surfaces réceptrices sur lesquelles elles peuvent adhérer par différents processus de transport. Ceux-ci peuvent être indépendants de l'action de la cellule, notamment via des phénomènes de sédimentation, de diffusion aléatoire par mouvements browniens dus à l'agitation thermique ou encore d'écoulement du fluide environnant. Certains travaux ont montré que la croissance du biofilm peut être facilitée dans des conditions d'écoulement de fluide (Thomen et al. 2017 ; Liu et al. 2019). Une étude réalisée par Hou et al. (Hou et al. 2018) a mis en évidence que le cisaillement du flux peut améliorer la formation de biofilm en augmentant notamment la production d'EPS et la résistance de la matrice. Le mouvement du liquide vers la surface facilite ainsi le transport des bactéries vers la surface. Le transport des bactéries sur une surface peut également être induit par les cellules elles-mêmes. En effet, certaines bactéries sont capables de mouvement propre et autonome grâce à la présence d'appendices à leur surface. En effet, comme toutes les bactéries vivantes doivent interagir avec leur environnement alors qu'elles cherchent à prospérer dans un environnement en constante évolution, elles peuvent y parvenir en utilisant des nanomachines telles que les flagelles et les fimbriae (par exemple les pili et les



curli) (Figure 15). Ces nanomachines bactériennes sont des structures multi-protéiques complexes qui sont omniprésentes parmi les bactéries Gram-positives et Gram-négatives et sont localisées généralement sur l'enveloppe cellulaire : du cytoplasme, à travers le périplasme et à travers la couche distale de peptidoglycane, jusqu'à l'environnement externe (Berry et Pelicic 2015). Toutefois, le rôle précis joué par les flagelles pendant l'adhésion cellulaire n'est pas totalement compris. Par exemple, si Pratt et Kolter (Pratt et Kolter 1998) montrent que la présence d'un flagelle facilite la formation d'un biofilm d'*E. coli* ; Prigent-Combaret et al. (Prigent-Combaret et al. 2000) observent quant à eux aucune influence significative du flagelle sur l'adhésion d'*E. coli*. Il est possible que l'importance du flagelle dépende du milieu environnant ainsi que de la nature de la surface (S. Zheng et al. 2021).

Il a également été rapporté que des souches de *C. albicans* possèdent de longs et minces appendices de surface cellulaire protéiques filamenteux appelés fimbriae (Gardiner, Canton, et al. 1982). La principale sous-unité structurelle des fimbriae est une glycoprotéine qui se compose de 80 à 85 % de glucides (constitués principalement de D-mannose) et de 10 à 15 % de protéines (L. Yu et al. 1994). Ces structures fonctionnent comme des adhésines et sont nécessaires aux interactions entre les cellules fongiques (floculation et filamentation) (Teunissen et Steensma 1995), et avec d'autres cellules telles que dans des interactions hôte-pathogène (de Groot et al. 2013b). Le rôle de ces structures dans la mobilité des cellules à l'état planctonique ou adhérentes n'est pas abordé dans la littérature.

La formation d'un biofilm sur une surface peut être décrite comme un processus composé de plusieurs étapes successives, représentées dans le schéma ci-dessous (Figure 3). Pour résumer, la formation du biofilm bactérien commence par l'adhésion réversible de cellules planctoniques à une surface organique ou inorganique par des liaisons physicochimiques, typiquement via des interactions électrostatiques, de Van der Waals ou hydrophobes. L'étape d'adhésion réversible correspondant à l'approche de la surface par un microorganisme peut être décrite par les théories DLVO<sup>5</sup> et DLVO étendues (van der Westen et al. 2018), éventuellement complétées en prenant en compte les effets stériques (Rijnaarts et al. 1999). Ces théories ne tiennent cependant que peu compte de la nature et des propriétés mêmes de

---

<sup>5</sup> Théorie développée par Derjaguin et Landau (Derjaguin et Landau 1941) et Verwey et Overbeek (Verwey et Overbeek 1948), qui s'appuie sur l'hypothèse d'additivité de différentes énergies, et dont l'un des intérêts est de prévoir s'il y a de l'attraction ou de la répulsion entre deux surfaces, en fonction de la distance qui les sépare.

la cellule microbienne, qui est essentiellement décrite comme un colloïde sphérique et rigide (Ong et al. 1999). Pourtant, la nature chimique de la membrane cellulaire ne peut pas être définie de manière absolue puisqu'elle dépend directement de son environnement. Par ailleurs, la théorie DLVO ne prend pas en compte la capacité de la bactérie à modifier la composition de sa membrane en fonction de sa perception de la surface. Ces différences peuvent introduire un biais dans les prévisions théoriques de l'adhésion.

Lors de la formation d'interactions microorganisme-surface suffisantes, et surtout après que la cellule ait « senti » la surface, l'adhésion cellulaire irréversible se produit ; cette étape n'est pas instantanée et nécessite une adaptation physiologique et morphologique des cellules (Hsu et al. 2013). Elle met en jeu des forces à courtes distances, comme des liaisons covalentes et des liaisons hydrogènes. Par exemple, ces deux types de liaisons sont requises pour la mise en place de liaisons de type ligands-récepteurs par l'intermédiaire des protéines membranaires ou des appendices. C'est notamment le cas, par exemple, des pili de type I, présents sur la plupart des *E. coli*, qui peuvent se lier spécifiquement au mannose retrouvé à la surface de cellules apicales de l'urothélium ; ces liaisons sont à l'origine d'infections des voies urinaires (Hatton, Baumann, et Fascione 2021).

Contrairement à la vaste littérature décrivant les biofilms bactériens, peu d'attention a été accordée aux biofilms fongiques. Toutefois, il a été montré que, de façon similaire aux biofilms bactériens, la formation du biofilm de *C. albicans* se produit à travers différentes phases de développement qui incluent la fixation et la colonisation initiales, suivies de la division cellulaire, de la prolifération et de la maturation du biofilm (Chandra et al. 2001; Ramage et al. 2001).

Une fois adhérentes, les cellules mères prolifèrent. Cette prolifération, corrélée à la consommation des éléments nutritifs disponibles dans leur environnement, s'accompagne de modifications du profil d'expression des gènes microbiens. Ces cellules produisent très tôt différentes molécules et protéines permettant de consolider leur adhésion sur la surface, telles que les appendices de type pili ou curli, et des substances polymères extracellulaires (EPS ; Extracellular Polymeric Substances). Une part importante des molécules produites sont des polysaccharides (on parle alors d'exopolysaccharides), comme l'acide colanique pour *E. coli*, qui sont des éléments clef de la structuration du biofilm qui débute (Limoli, Jones, et Wozniak 2015). Malgré la distance évolutive entre les bactéries et les levures, ces dernières

utilisent de nombreux mécanismes de synthèse et de modification de la structuration du biofilm identiques à ceux des bactéries, notamment concernant les exopolysaccharides. Une analyse récente de la composition du biofilm de *C. albicans* a révélé que trois polysaccharides jouent un rôle central et complexe dans la structuration de la matrice (Zarnowski et al. 2014). Les polysaccharides les plus abondants dans la MEC d'un biofilm de *C. albicans* sont le 1,6-mannane lié au chaînes latérales du 1,2-mannane (85%) et le 1,6-glucane (14%). La perte de l'un de ces trois polysaccharides est associée à une réduction marquée de la MEC, d'une réduction de la quantité des deux autres polysaccharides, et d'une sensibilité accrue au fluconazole (K. Mitchell et al. 2015).

Cette production d'EPS est caractéristique d'un mode de vie en biofilm. Les bactéries et les levures produisent elles-mêmes leur matrice extracellulaire. Pour cela, elles augmentent l'expression des éléments composant la matrice extracellulaire, ainsi que de porines permettant la sécrétion extracellulaire de ces derniers (Prigent-Combaret et al. 1999). Par ailleurs, un autre élément compose les biofilms microbiens : l'ADN extracellulaire (eDNA). L'importance de l'eDNA dans les biofilms de bactéries pathogènes Gram-positives et Gram-négatives est largement reconnue, et a été pour la première fois mise en évidence dans l'induction et la formation de biofilms du pathogène opportuniste *P. aeruginosa*. Dans le cas de *P. aeruginosa*, il a été montré que l'eDNA déclenchait l'initiation du biofilm (Whitchurch et al. 2002). Cet eDNA peut être d'origine chromosomique, provenant de la lyse de certaines bactéries du biofilm (Allesen-Holm et al. 2006). Chez *C. albicans*, l'eDNA ne s'est pas avéré être un constituant majeur du biofilm. Cependant, le traitement à la DNase I a entraîné le détachement des cellules du biofilm et, dans une situation défavorable, l'ajout d'ADN exogène à un biofilm mature a entraîné une augmentation significative de la biomasse (Al-Fattani et Douglas 2006; Martins et al. 2010). Chez les levures, cet eDNA est libéré principalement au cours des étapes de la maturation du biofilm, participant à son hétérogénéité (Rajendran et al. 2014). Par rapport aux biofilms bactériens, où l'eDNA est un mode établi de transfert génétique horizontal, l'eDNA de *C. albicans* est largement non codant (Zarnowski et al. 2014).

### 2.2.2. Structuration du biofilm

Le stade de maturation d'un biofilm correspond au développement des microcolonies et à la structuration du biofilm. Le biofilm bactérien est un environnement structuré, qui présente souvent une architecture complexe, qui dépend des microorganismes le constituant et des

conditions environnementales (de Beer et al. 1994 ; Sutherland 2001). Il se compose d'agrégat de microorganismes, séparés par des espaces libres, et parcourus par des courants aqueux. Ceux-ci assurent la circulation des fluides et permettent ainsi l'apport en nutriments et de gaz aux bactéries, par des diffusions sous l'effet de gradients de concentration, et l'élimination des déchets métaboliques produits par les bactéries (Lawrence et al. 1991). Les biofilms fongiques présentent des structures similaires à celles des biofilms bactériens, avec également la présence de canaux aqueux (O'Toole, Kaplan, et Kolter 2000). Par ailleurs, la formation d'hyphes de *C. albicans* se produit en réponse à des stimuli environnementaux distincts et est contrôlée par des réseaux de régulation complexes (Berman et Sudbery 2002 ; Brown et Gow 1999). La filamentation semble jouer un rôle essentiel dans le développement de l'architecture spatialement organisée observée dans les biofilms matures et hautement structurés de *C. albicans*.

### 2.2.3. Hétérogénéité du biofilm mature

Le biofilm est une structure tridimensionnelle qui conduit à la création de gradients physico-chimiques. Par exemple, 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 milieu environnant sont mieux oxygénées et plus riches en nutriments (Costerton 1999). Ainsi, la composition d'un biofilm est hétérogène, avec des zones à teneurs variables en nutriments ou gaz. Le pH au sein d'un biofilm est également variable. 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.

Par ailleurs, les biofilms matures de *C. albicans* présentent une architecture tridimensionnelle complexe avec une grande hétérogénéité spatiale, consistant en un réseau dense de levures, d'hyphes et de pseudohyphes enfermés dans une matrice de matériau exopolymère (López-Ribot 2005 ; Chandra et al. 2001). En effet, une caractéristique frappante de la maturation du biofilm de *C. albicans* est le changement morphologique des cellules, avec l'apparition d'hyphes ou de structures pseudohyphes (Figure 2). *C. albicans* est capable de se développer soit sous forme de levure bourgeonnante unicellulaire, soit sous forme filamenteuse avec des pseudohyphes et des hyphes (Stelzner 1990 ; Sudbery, Gow, et Berman 2004). Les pseudohyphes se distinguent morphologiquement des hyphes : les pseudohyphes ont des

constrictions aux sites de cloisonnement et sont plus larges que les hyphes. En revanche, les hyphes forment de longs filaments en forme de tube avec des côtés complètement parallèles et sans constrictions au site de cloisonnement. Il existe également des différences fondamentales entre hyphes et pseudohyphes dans leur organisation du cycle cellulaire et les mécanismes de croissance polarisée.

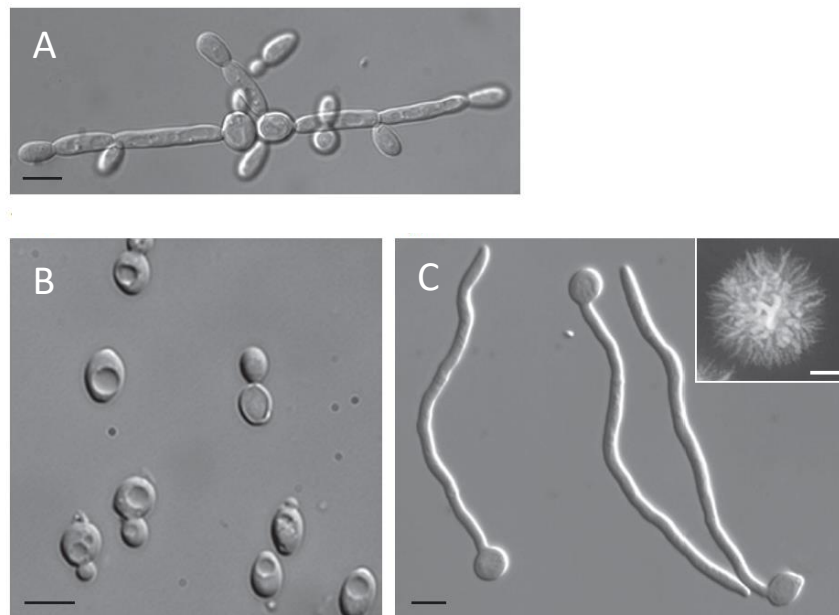


Figure 2 : Plasticité morphologique de *C. albicans*. (A) Morphologie sous forme de pseudohyphe. (B) Morphologie sous forme de cellule arrondie. (C) Morphologie sous forme d'hyphe. L'encart dans le panneau (C) montre l'apparition d'une colonie d'hyphes qui se développe depuis 5 jours sur milieu Spider. Barres d'échelle dans les panneaux principaux : 5  $\mu\text{m}$ , et dans l'encart sur le panneau (C) : 1 mm. La figure est extraite de (Gladfelter et Sudbery 2008).

#### 2.2.4. Détachement et dispersion du biofilm

Au sein d'un biofilm mature, certains microorganismes peuvent se détacher du biofilm et rentrer dans la phase de dissémination, permettant la colonisation de nouvelles surfaces. Notamment, à l'apogée de la formation du biofilm bactérien, le quorum sensing (QS) peut induire la lyse de la structure des exopolysaccharides via des enzymes (O'Toole et Kolter 1998 ; Fazli et al. 2014) synthétisées par les bactéries, et l'expression des gènes bactériens est modifiée, avec notamment une modification des gènes associés à la motilité qui sont régulés à la hausse. Les bactéries peuvent alors reprendre leur état planctonique afin de coloniser de nouvelles surfaces, facilitant la propagation des bactéries pour permettre au cycle de formation du biofilm de se reproduire (Garrett, Bhakoo, et Zhang 2008). Les événements associés à la dispersion des cellules des biofilms de *C. albicans* sont peu étudiés dans la littérature. Toutefois, sous l'influence du QS, avec l'action supposée du farnésol (Blankenship

et Mitchell 2006), les biofilms matures de *C. albicans* peuvent subir une phase de dispersion au cours de laquelle les organismes changent de morphologie pour revenir sous forme sphérique unicellulaire, et sont ensuite libérés de la matrice et disséminés dans l'environnement (Sellam et al. 2009). Chez *C. albicans*, la limitation des nutriments dans le biofilm pourrait favoriser le détachement de cellules du biofilm (Blankenship et Mitchell 2006). Les cellules du biofilm pourraient également posséder des mécanismes de régulation de l'activité de leurs adhésines, leur permettant ainsi de se libérer de la structure du biofilm (Granger et al. 2005).

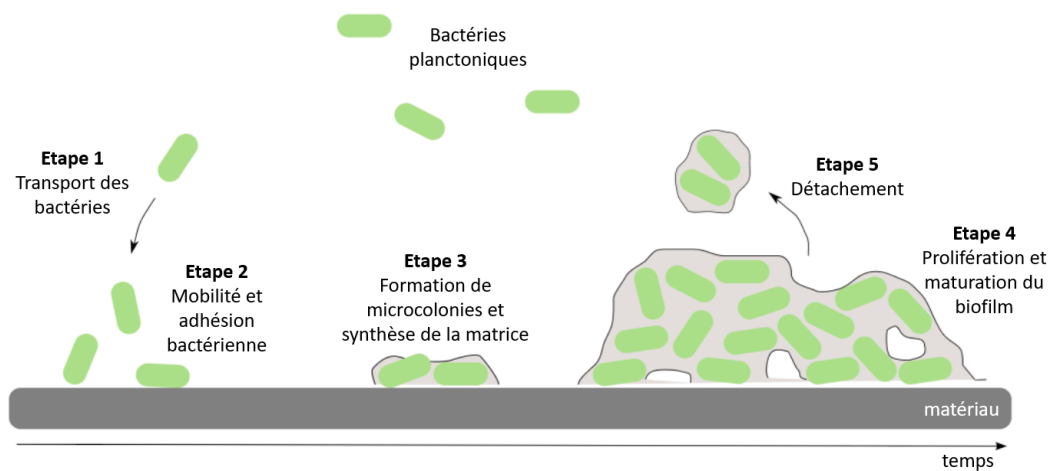


Figure 3 : Etapes de formation d'un biofilm bactérien. Ces étapes sont similaires pour la formation d'un biofilm fongique. Les microorganismes se déplacent passivement ou activement vers la surface puis s'y adhèrent de façon réversible puis irréversible. Les microorganismes se multiplient et synthétisent la matrice du biofilm pour former des microcolonies, puis ensuite un biofilm mature. Certains microorganismes peuvent se détacher du biofilm mature et coloniser d'autres surfaces. Illustration de L. Ploux©.

## 2.3. Avantages et conséquences du mode de vie en biofilm

### 2.3.1. Echanges d'informations au sein du biofilm

#### ➤ Transfert d'information génétique au sein du biofilm

Il existe trois systèmes principaux de transfert horizontal de gènes chez les procaryotes, à savoir la conjugaison, la transformation et la transduction (Johnston et al. 2014). La conjugaison consiste en un transfert d'information génétique d'une cellule à une autre via un contact direct, par pili sexuels, notamment. La transformation implique le passage de matériel génétique exogène d'une cellule à une autre, sans contact direct. Quant à la transduction, il s'agit d'une injection de matériel génétique par un bactériophage. Les biofilms sont des environnements idéaux pour la transmission horizontale génétique car ils favorisent la

proximité de différentes espèces microbiennes au sein d'un même espace et favorisent ainsi ces transferts de gènes horizontaux. La fréquence d'échange de gènes est augmentée lors du développement des cellules dans des biofilms (Roberts et al. 1999 ; Björklöf et al. 2000 ; Ghigo 2001). Les conséquences de ces transferts pour les microorganismes sont importantes. Par exemple, cela favorise l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques, car une fois la résistance acquise par une cellule, elle peut être transmise à des cellules d'espèces différentes et parfois même de genre différents (Ghigo 2001). Le transfert horizontal de gène chez les levures est très peu évoqué dans la littérature ; des études abordent le transfert horizontal d'information génétique entre eucaryotes (*S. cerevisiae* notamment) (Novo et al. 2009), mais également entre procaryotes et eucaryotes (Hall, Brachat, et Dietrich 2005).

➤ Communication cellulaire au sein du biofilm

Les microorganismes inclus dans un biofilm sont capables de « communiquer », orchestrant ainsi la formation de microcolonies microbiennes. En effet, la densité des microorganismes et leurs contacts cellulaires facilitent la communication intercellulaire via un mécanisme appelé quorum sensing (QS) (Williams et al. 2007) qui implique la production, la sécrétion et la détection, par les microorganismes, signaux moléculaires appelées des auto-inducteurs (AI). Ce processus a été découvert en 1970 par la description d'un système de communication qui contrôle la luminescence chez la bactérie marine *V. fischeri* vivant en association avec un calmar hawaïen, *Euprymna scolopes* (Nealson, Platt, et Hastings 1970). L'émission de bioluminescence permet au calmar de se camoufler afin d'échapper à ses prédateurs en utilisant la lumière émise par la bactérie comme contre-éclairage pour masquer son ombre.

La concentration en autoinducteurs est proportionnelle au nombre de cellules, et servent d'indicateur moléculaire de la densité cellulaire. A partir d'une certaine concentration de ces molécules, une réponse cellulaire est enclenchée par l'activation et la répression de gènes. Les microorganismes utilisent ainsi le QS afin d'optimiser l'expression d'une activité microbienne coûteuse en énergie (Diggle et al. 2007), et de mettre en place une réponse coopérative. Cette réponse peut par exemple améliorer l'accès aux nutriments et favoriser la défense collective, favorisant ainsi la survie et la lutte contre les menaces environnementales (Williams 2007).

Les bactéries utilisent des molécules de communication variées. La plupart des bactéries à Gram négatif utilisent des homosérines lactones (AHL ou autoinducteur de type 1) ; les autoinducteurs de type 2 sont quant à eux utilisés à la fois par les bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Chez *E. coli*, les AHL ne sont pas directement impliqués dans la formation de biofilm, car cet organisme n'est pas capable de produire des AHL. Cependant, étant donné qu'*E. coli* produit une protéine de type récepteur (SdiA), similaire à l'activateur transcriptionnel de type LuxR dans le QS dépendant de l'AHL (Ahmer 2004 ; Henikoff, Wallace, et Brown 1990), les molécules de signalisation produites par d'autres espèces peuvent éventuellement influencer la formation du biofilm d'*E. coli* dans l'environnement naturel. De nombreuses souches d'*E. coli* produisent l'autoinducteur-2 (AI-2) qui est répandu dans les bactéries Gram-négatives et Gram-positives et dépend du produit du gène *luxS* pour sa synthèse. AI-2 est impliqué dans la régulation de multiples fonctions chez *E. coli*, telles que la production de flagelles (DeLisa et al. 2001 ; Sperandio et al. 2001), qui influencent la formation de biofilm. Plusieurs études ont mis en évidence le rôle du QS dans la formation des biofilms bactériens (Huber et al. 2001 ; Labbate et al. 2004 ; Balestrino et al. 2005). Par exemple, chez *P. aeruginosa*, l'inhibition du QS induit une perte de la structuration du biofilm mature (Davies et al. 1998). Le QS est impliqué dans plusieurs processus ou comportements bactériens y compris la synthèse de facteurs de virulence, la résistance aux antibiotiques, la luminescence et la production d'exopolysaccharides nécessaires pour l'adhésion et la formation de biofilm (Moons et al. 2005 ; Bagert et al. 2016).

La découverte du contrôle de la filamentation du champignon polymorphe *C. albicans* par le farnésol a également révélé le phénomène de QS chez les levures. Dans la physiologie de *C. albicans*, le farnésol joue plusieurs rôles en tant que molécule de signalisation en plus d'avoir des effets néfastes sur les cellules hôtes et autres microbes. Un autre alcool aromatique, le tyrosol, qui contrôle la croissance, la morphogénèse et la formation de biofilm agit également comme molécule de QS chez *C. albicans* (Albuquerque et Casadevall 2012). Le tyrosol favorise les événements précoces dans la formation du biofilm, tels que l'adhésion et la filamentation. De plus, le farnésol est sécrété dans des phases de maturation du biofilm et inhibe l'adhésion, facilitant éventuellement la dispersion du biofilm (Alem et al. 2006). Même si la recherche concernant le QS des levures et des champignons en est encore à ses balbutiements, les comportements de densité de population impliquant un QS ont été documentés dans



plusieurs espèces fongiques (Albuquerque et Casadevall 2012 ; Wongsuk, Pumeesat, et Luplertlop 2016). Les molécules de signalisation ne sont généralement pas spécifiques à une souche et une grande diversité de celles-ci a été rapportée chez les levures. Les lipides (oxylipines), les peptides (phéromones), les alcools (tyrosol, farnésol, tryptophol et 1-phényléthanol), les acétaldéhydes, et certains composés volatils sont activement impliqués dans le QS fongique, régulant les diverses fonctions clés comme pathogénèse, morphogénèse, filamentation, etc... (Cottier et Mühlischlegel 2012 ; Albuquerque et Casadevall 2012 ; Polke, Hube, et Jacobsen 2015). Ainsi, comme pour les bactéries, des molécules de signalisation du QS fongique, telles que le tyrosol et le farnésol, modulent la formation de biofilm chez *C. albicans*.

### 2.3.2. Protection vis-à-vis de stress environnementaux

L'utilisation de mécanismes complexes de communication inter-microbienne au sein du biofilm favorise l'adaptation de la population microbienne à des variations d'environnement et sa résistance aux différents stress que la colonie peut subir, tels que des stress physiques, chimiques ou biochimiques (Vatansever et Türetgen 2018). En cela, les biofilms sont des moyens de procurer une résistance aux microorganismes les composants.

Les propriétés des biofilms conférant ces propriétés protectrices comprennent :

- Les EPS qui adsorbent et tamisent diverses petites molécules telles que les agents antimicrobiens, contrecarrant leur capacité à pénétrer le biofilm (Al-Fattani et Douglas 2006). Le lien initial entre la MEC et la résistance de *Candida* face aux drogues antifongiques a été découvert par l'équipe de Douglas lorsqu'elle a corrélé l'abondance de la matrice avec une tolérance du biofilm aux antifongiques amphotéricine B et fluconazole (Al-Fattani et Douglas 2006 ; J. Nett et al. 2007 ; Vedyappan, Rossignol, et d'Enfert 2010 ; J. E. Nett et al. 2010).
- Le piégeage et l'accumulation de fortes concentrations de facteurs de virulence, de  $\beta$ -lactamases et d'autres enzymes, qui dégradent les antibiotiques dans les biofilms bactériens (Hengzhuang et al. 2013) ;
- L'hétérogénéité des populations microbiennes composant le biofilm, qui augmente la probabilité de la présence d'une souche résistante au stress appliqué. 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 des microorganismes métaboliquement peu actifs (Brown, Allison, et Gilbert 1988 ; Borriello et al. 2004). Par ailleurs, la plasticité morphologique de *C. albicans* est un déterminant de la virulence, car la forme hyphale joue un rôle clé dans le processus d'infection ; par exemple, les formes d'hyphes invasives ne sont pas tolérées par le système immunitaire de l'hôte infecté et induit une réponse immunitaire médiée par les macrophages (Moyes et al. 2010).

- Les propriétés architecturales et physiques du biofilm qui offrent aux microorganismes une protection contre les stress environnementaux, tels que le stress mécanique de l'écoulement d'un fluide (fluide sanguin, urinaire, ou encore lymphatique), le stress en température ou encore le stress hydrique (Johani et al. 2018 ; Donlan 2002 ; Flemming et Wingender 2010 ; Adcox et al. 2016 ; Yin et al. 2019).

Finalement, ces caractéristiques font que le biofilm constitue un mode de vie favorable pour les microorganismes qui le composent. Ainsi, la structure de biofilm confère aux microorganismes un avantage sur le plan évolutif.

### 3. Facteurs et stratégies influençant la formation de biofilm

#### 3.1. Facteurs impactant la formation de biofilm

Dans cette partie, nous discuterons des différents facteurs pouvant influencer l'adhésion microbienne et la formation de biofilm. Ils seront regroupés en trois grandes catégories, à savoir les propriétés des microorganismes eux-mêmes, les propriétés intrinsèques au matériau, et les autres facteurs extérieurs. La majorité de ces facteurs et de leur influence sur la formation de biofilm bactérien est décrite dans une revue récente (S. Zheng et al. 2021). En revanche, l'influence des facteurs impactant l'adhésion des levures est moins abordée dans la littérature. Notamment, la littérature concernant l'influence des propriétés mécaniques des substrats sur l'adhésion des levures est quasiment inexistante.

##### 3.1.1. Les propriétés des microorganismes

Dans la littérature, l'influence des bactéries sur la colonisation microbienne de surfaces est généralement décrite de deux façons : l'une assimilant le microorganisme à une particule inerte possédant des propriétés physico-chimiques particulières et l'autre considérant le microorganisme comme une particule vivante capable de s'adapter à son environnement. En réalité, les microorganismes sont des êtres-vivants présentant des propriétés de surface évolutives, avec notamment la présence de structures permettant le *sensing* de surface.

Tout d'abord, les microorganismes sont capables de se déplacer et de venir au contact de surface via des mobilités passives ou actives. Dans ce second cas, on parle de motilité, qui fait référence à la capacité de se déplacer spontanément et activement, en consommant de l'énergie. Dans la littérature, les motilités sont majoritairement regroupées en deux catégories, à savoir la motilité planctonique qui implique la rotation flagellaire, et la motilité associée à la surface avec certaines sous-motilités.

- **Motilité planctonique**

La colonisation d'une surface par un microorganisme suppose qu'il s'est déplacé pour venir à sa surface avant de s'y adhérer. Il peut effectuer ces déplacements de façon passive (mobilité passive) ou active (motilité). Ici, nous abordons la motilité. D'un point de vue physique, une bactérie aussi petite qu'*E. coli*, de quelques microns seulement, immergée dans l'eau, n'est pas capable de se déplacer sans déployer de systèmes actifs pour se propulser (Purcell 1973). Ces capacités de mouvement actif sont liées aux organites protéiques, le plus connu étant le flagelle. Dans ce cas, on parle de motilité de type *swimming* (Figure 4-A) Les flagelles sont des appendices locomoteurs qui s'étendent à l'extérieur de la membrane plasmique et de la paroi cellulaire. Ce sont des structures minces, d'environ 20 nm de diamètre et de 15 à 20 µm de longueur. L'influence de mutations du flagelle bactérien a montré que la motilité était critique pour l'initiation du biofilm d'*E. coli*. Les travaux de Pratt et Kolter (Pratt et Kolter 1998) ont suggérés que la motilité favorisait le contact initial cellule-surface en surmontant les forces de répulsion entre la cellule et la surface, et pouvait contribuer à la propagation de bactéries sur une surface abiotique.

La littérature n'évoque pas, à notre connaissance, de structure à la surface de levures leur permettant de se déplacer activement sous forme planctonique.

- **Motilité des microorganismes adhérents à une surface**

Par ailleurs, une fois au contact avec la surface, les bactéries peuvent être très mobiles et la coloniser rapidement. Cinq types de motilité ont été identifiés, bien que tous les mécanismes ne soient pas clairement élucidés. Ces motilités sont appelées « swarming », « gliding », « twitching » et « sliding » et « darting » (Figure 4).

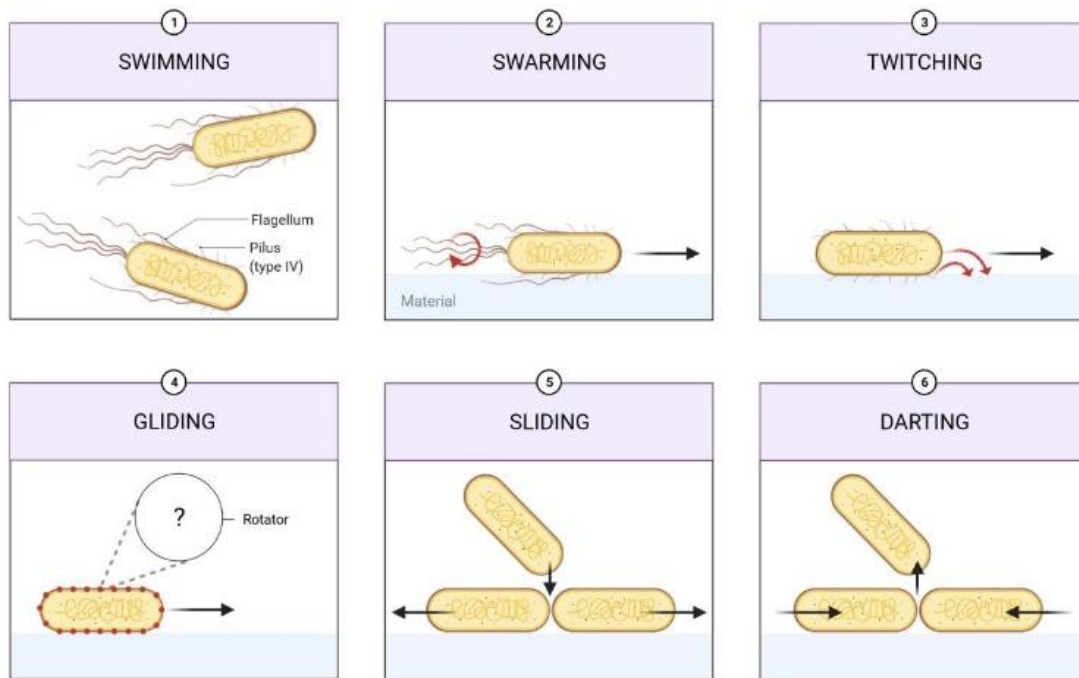


Figure 4 : Mécanismes de mobilité et de motilité bactérienne. (1) La motilité de type "swimming" est un comportement individuel qui implique l'utilisation du flagelle pour se déplacer dans un liquide. (2) La motilité de type « swarming » consiste en un déplacement pour lequel la présence de flagelles est nécessaire à la propulsion cellulaire. (3) La motilité de type « twitching » consiste en un déplacement de surface impliquant l'extension et la rétraction des pili. (4) La motilité de type "gliding" est rendue possible par les adhésines qui se fixent au substrat et se déplacent sur toute la longueur de la cellule. (5) La motilité de type « sliding » est un type de déplacement qui résulte de la prolifération de bactéries et de l'intercalation de nouvelles bactéries au sein du tapis bactérien. (6) La motilité de type « darting » est le résultat de l'entassement des bactéries et de la poussée des bactéries comprimées du tapis bactérien. Figure inspirée par Marguier©.

- **"Swarming" (Figure 4-2)** : le *swarming* est un type de motilité utilisé par plusieurs espèces bactériennes possédant un flagelle, telles que *Escherichia*, *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas* et *Salmonella*. Il consiste en un mouvement rapide (2-10  $\mu\text{m/s}$ ) (Partridge et al. 2020) et coordonné d'une population bactérienne sur une surface (Harshey 2003). Ce type de motilité induit également la production d'un tensioactif permettant la réduction de la tension superficielle du substrat (Kearns 2010), et dépend fortement de l'hydratation de la surface ainsi que de son élasticité (Rather 2005 ; Ke et al. 2015). Les bactéries effectuant ce type de motilité subissent une différenciation cellulaire, qui consiste notamment en une augmentation du nombre de flagelles et un allongement cellulaire (Kearns 2010).
- **« Twitching » (Figure 4-3)** : le *twitching*, ou *gliding* avec pili, est un mode de déplacement qui s'appuie sur l'expression des pili de type IV (Harshey 2003). Il s'agit de bactéries des genres *Streptococcus*, *Legionella*, *Neisseria*, *Pseudomonas*

et *Vibrio*. Le déplacement utilisant cette motilité implique l'extension et la rétraction actives des pili de type IV situés de part et d'autre des pôles de la bactérie (Holz et al. 2010). La motilité de type *twitching* implique généralement une étroite interaction cellule-cellule qui génère la formation de « radeaux » cellulaires composés de plusieurs cellules (Mattick 2002). Impliquée dans un grand nombre de processus de colonisation, cette motilité est plus lente que le *swarming* avec une vitesse de déplacement de  $0,06 - 0,50 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  (Semmler, Whitchurch, et Mattick 1999 ; Skerker et Berg 2001).

- **“Gliding” (Figure 4-4)** : le *gliding*, ou *gliding* sans pili, est probablement le type de déplacement le moins compris. Certaines bactéries se déplacent sur les surfaces sans l'aide de flagelles ou de pili. Elles utilisent pour ce type de motilité des adhésines qui se fixent au substrat et se déplacent sur toute la longueur de la cellule, permettant à la cellule de se déplacer à une vitesse entre  $0,025$  et  $10 \mu\text{m}/\text{s}$  (Miyata 2010 ; Nakane et al. 2013 ; Nan et al. 2014 ; Kinosita et al. 2014). Les mécanismes font intervenir des points focaux, situés dans la membrane bactérienne et constitués d'un ensemble de protéines (Nan et al. 2014).
- **“Sliding” and “darting” (Figure 4-5 et 4-6)** : le *sliding* est un type de mouvement qui résulte de la prolifération de bactéries et de l'intercalation de nouvelles bactéries au sein du tapis bactérien. Cette intercalation induit alors un déplacement des bactéries en surface afin de créer l'espace disponible. Au contraire, le *darting* est le résultat de l'entassement des bactéries et de la poussée des bactéries comprimées du tapis bactérien. Lors de ces mouvements, les bactéries peuvent avoir des vitesses comprises entre  $0,03$  et  $6 \mu\text{m}/\text{s}$  (Harshey 2003).

Contrairement aux bactéries, les levures adhérentes à une surface ne sont pas motiles (Palková et al. 1997 ; Flor-Parra et al. 2013). Les travaux de Flor-Parra et al. (Flor-Parra et al. 2013) ont montré que des cellules de la levure *Schizosaccharomyces pombe* présentant une délétion du gène *pck2*, nécessaire à la synthèse des composants clés qui fournissent la résistance mécanique à la paroi cellulaire (Kobori et al. 1994 ; Kopecká, Fleet, et Phaff 1995), étaient incapables d'établir et de maintenir une forme cylindrique, formaient des protubérances cytoplasmiques, et leur conféraient la capacité de migrer (vitesse comprise entre  $0,062$  et  $0,11$

µm/min). Cette migration pourrait être le résultat du cycle de formation de protrusions, formées par la pression de turgescence et accompagnées de cycles de rupture/réparation de la membrane cellulaire.

Par ailleurs, les appendices fimbriae influencent également la formation de biofilm. Les adhésines les plus couramment trouvées chez le pathogène *E. coli* sont les fimbriae de type 1 ; leur influence sur la formation de biofilm a bien été étudiée. La piline est la protéine principale et structurale des pili. Pour le pili de type 1, la piline est nommée FimA. Cette protéine est codée par le gène *fimA*, situé sur l'opéron Fim, regroupant les gènes *fimA*, *fimC*, *fimD*, *fimF*, *fimH* et *fimI*. Une analyse de la formation de biofilm de mutants du gène *fim* a permis de montrer que les cellules étaient fortement déficientes dans l'adhésion initiale aux surfaces abiotiques en condition statique (Pratt et Kolter 1998). Ces observations illustrent que les fimbriae de type 1 sont essentiels pour une fixation initiale stable de la cellule à la surface. De plus, les interactions physiques entre les fimbriae de type 1 et une surface solide conduisent à des changements de la constitution des membranes externes des cellules adhérentes, matérialisées par une diminution du taux de protéines membranaires externes (Otto et al. 2001).

Outre les fimbriae de type 1, les souches d'*E. coli* produisent souvent d'autres fimbriae. Parmi eux, sont retrouvés des pili de type 2, ou curli. Pour le pili de type 2, la piline est nommée CsgA. Les curli sont des appendices filamenteux protéiques hétéropolymères qui se composent d'une protéine majeure (CsgA) et d'une protéine mineure (CsgB). Elles influencent les propriétés d'adhésion de plusieurs souches d'*E. coli* formant un biofilm (Olsén, Jonsson, et Normark 1989).

Les levures possèdent également des structures permettant la stabilisation de leur adhésion sur une surface, fonctionnant comme des adhésines. Notamment, *C. albicans* met en place des protéines de la famille des « agglutine-like sequences » (Als), particulièrement Als1p et Als3p (Nobile et al. 2008 ; Sheppard et al. 2004 ; Fu et al. 2002), pour former des structures amyloïdes (Otto et al. 2008 ; Ramsook et al. 2010 ; Garcia et al. 2011). Chez *C. albicans*, il a été montré que la délétion d'Als3p induisait la formation d'un biofilm fragile avec une architecture anormale, dans laquelle les filaments d'hyphes étaient parallèles plutôt qu'entrelacés (Xiaomin Zhao et al. 2006, 3).

Finalement, des structures spécifiques de la surface cellulaire, lorsqu'elles sont produites, jouent un rôle dans une ou plusieurs étapes de développement du biofilm microbien.

### 3.1.2. Les matériaux

Plusieurs paramètres surfaciques influencent l'adhésion microbienne (Figure 6), dont la chimie de surface, la topographie ou les propriétés mécaniques.

**Influence de la chimie de surface.** Concernant la chimie de surface, trois points seront abordés ici, à savoir la densité de charge de surface, la mouillabilité de surface, l'hydratation de surface et les groupements chimiques eux-mêmes, qui sont des paramètres étroitement liés.

#### - La densité de charge de surface

De nombreuses études ont été réalisées sur l'influence de la densité de charge d'une surface sur l'adhésion bactérienne. Etant donné que les bactéries possèdent, à pH physiologique ( $\text{pH} \approx 7$ ), généralement une charge nette négative (Israelachvili 2011) due aux groupes carboxyle, amino et phosphate sur la surface de leur paroi cellulaire, une adhésion favorisée lorsque les surfaces sont chargées positivement est attendue, ce qui a souvent été observée dans la littérature. Par exemple, les travaux de Gottenbos et al. (Gottenbos et al. 1999) ont montré que l'adhésion et la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* étaient deux fois supérieures sur des surfaces de poly(méthacrylates) chargées positivement comparé à ces mêmes surfaces chargées négativement. Une autre étude a également montré que *Pseudomonas spp.*, *E. coli* et *S. aureus* adhéraient en plus grande quantité sur des surfaces d'acide poly(acrylique) et de chlorure poly(diallyldiméthylammonium) chargées positivement (X. Zhu et al. 2015). Des surfaces multicouches de poly(allylamine hydrochloride) chargées positivement ont au contraire limité l'adhésion de *P. aeruginosa* comparé à des multicouches de poly(styrenesulfonate) chargées négativement (Kovačević et al. 2016). Une limitation de l'adhésion de *S. aureus* de *E. coli* a également été démontrée grâce à une densité de charge négative de multicouches de polyélectrolytes (Guo et al. 2018). Certaines études montrent que la densité de charge de surface affecte non seulement l'adhésion bactérienne mais également la formation de biofilm (Ueshima et al. 2002 ; van Merode et al. 2006 ; Kao et al. 2017 ; Shen et al. 2020). Notons toutefois que les tendances à court terme (i.e. étape

d'adhésion) ne sont pas systématiquement retrouvées à plus long terme (i.e. étape de formation de biofilm).

Cependant, des études ont également mis en évidence des bactéries qui adhéraient de façon identiques sur des surfaces positivement ou négativement chargée. Ainsi, les travaux de Kao (Kao et al. 2017) ont démontré que la charge positive ou négative de surfaces de polystyrène n'influençait pas l'adhésion de *P. aeruginosa*. Par ailleurs, il a été mis en évidence que, malgré leur charge surfacique nette négative, certaines bactéries avaient la capacité de surmonter la répulsion électrostatique d'un matériau, et qu'elles seraient même capables de s'y lier étroitement, notamment grâce à leurs appendices surfaciques tels que les fimbriae (Ueshima et al. 2002). Une autre étude a même montré que l'adhésion de *Streptococcus mutans* était favorisée sur des surfaces chargées négativement (He et al. 2019).

Ainsi, l'impact de la densité de charge d'une surface sur l'adhésion des microorganismes ne fait pas consensus. La force ionique du milieu et la longueur de Debye<sup>6</sup> associée sont probablement en jeu (B. Fang et al. 2011). En effet, la force ionique du milieu de culture LB, milieu classiquement utilisé pour les études microbiologiques, est d'environ 150 mM. Ceci est suffisamment élevé pour que les charges de surface puissent être écrantées électriquement en raison de la longueur de Debye, ici d'environ 0,8 nm. Par conséquent, les charges de surface des bactéries et les surfaces des revêtements pourraient ne plus représenter des facteurs d'influence de l'adhésion des bactéries.

#### - La mouillabilité de surface

La mouillabilité représente l'importance de l'étalement d'une goutte d'un liquide (généralement de l'eau) sur une surface donnée : le liquide va conserver une forme globalement sphérique sur une surface hydrophobe et va s'étaler sur une surface hydrophile. Plus précisément, si l'angle de contact (angle formé entre la surface et la goutte) est supérieur à 90°, la surface est généralement considérée comme hydrophobe (Parvate, Dixit, et Chattopadhyay 2020) ; si l'angle de contact est inférieur à 90°, la surface est considérée comme hydrophile. La mouillabilité de surface est une propriété centrale qui régit les

---

<sup>6</sup> La longueur de Debye définit la longueur sur laquelle les ions présents en solution font écran au champ électrique généré par une surface, par exemple une paroi chargée d'une bactérie ou d'un colloïde.



interactions entre les phases solide et liquide dans les systèmes biologiques. En général, les surfaces à faible énergie de surface et les liquides à haute tension superficielle ont tendance à réduire la mouillabilité de la surface. D'autre part, les surfaces à haute énergie de surface et les liquides à faible tension superficielle ont tendance à augmenter la mouillabilité de la surface (Song et al. 2019 ; Prakash et Prasanth 2020). Dans un système d'une goutte liquide en contact avec un solide et d'un gaz environnant (Figure 5), il y a trois énergies d'interface : l'énergie d'interface solide-vapeur notée  $\gamma_{SV}$ , l'énergie d'interface solide-liquide notée  $\gamma_{SL}$  et l'énergie liquide-vapeur notée  $\gamma_{LV}$ . Soit  $\Theta$  l'angle de contact à l'équilibre, l'équation qui doit être satisfaite à l'équilibre (connue sous le nom d'équation de Young-Laplace) s'écrit (Equation 1) :

$$\gamma_{SV} - \gamma_{SL} - \gamma_{LV} \cos \Theta = 0 \text{ (Equation 1)}$$

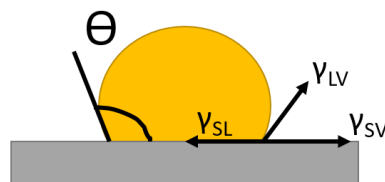


Figure 5 : Schématisation d'un angle de contact d'une goutte liquide sur une surface solide et d'un gaz environnant, avec les trois énergies d'interfaces.

Dans la littérature, le terme « tension de surface » est utilisé de façon simplifiée pour décrire  $\gamma_{SL}$ . La variable  $\gamma_{SV}$  est considérée comme une constante quand l'analyse est faite pour un même système. Ainsi, « une augmentation d'énergie de surface » est couramment associée comme une augmentation de  $\gamma_{SL}$ , impliquant une diminution de  $\cos \Theta$  et par conséquent une augmentation de l'angle de contact, donc une augmentation de l'hydrophobie.

De nombreux travaux se sont intéressés à l'influence de l'hydrophilie/hydrophobie du matériau sur l'adhésion microbienne. An et Friedman (Yuehwei H An et Friedman 1997) ont proposé que les matériaux hydrophiles sont défavorables à l'adhésion de bactéries possédant des membranes hydrophobes. D'autres études confirment ces observations avec d'autres espèces (Wiencek et Fletcher 1995; Y. H. An et Friedman 1998; Tegoulia et Cooper 2002; Cerca et al. 2005), où l'adhésion bactérienne serait gênée par la formation d'une couche d'hydratation sur la surface. Néanmoins, cette tendance doit être nuancée car d'autres travaux montrent que le caractère défavorable à l'adhésion des surfaces hydrophiles n'est pas absolu. Par exemple, des travaux montrent que les bactéries hydrophiles ont une affinité plus

importante avec les surfaces qui sont aussi hydrophiles, et les bactéries hydrophobes avec les surfaces hydrophobes (van Loosdrecht et al. 1987 ; Bakker et al. 2004). Brisset et al. (Brisset et al. 1996), ont montré que des cathéters présentant à la fois des régions hydrophiles et hydrophobes avaient permis la colonisation de la plus grande variété d'organismes. Les propriétés d'hydrophobie/hydrophilie de la membrane bactérienne jouent elles aussi un rôle. Par ailleurs, l'influence de l'hydrophobicité de surface n'intervient pas seulement au cours de l'adhésion bactérienne mais également au cours du développement du biofilm comme le montrent Ploux et al. (Marguier et al. 2020). La cinétique et la structuration du biofilm sont ainsi différentes selon la fonctionnalisation de surface du matériau ( $-CH_3$  ou  $-NH_2$ ). Par ailleurs, les mobilités bactériennes sur la surface peuvent être différentes même si les cinétiques de colonisation de surface sur des surfaces hydrophiles et hydrophobes étaient identiques ; ceci est notamment mis en évidence par Boks et al. (Boks et al. 2009).

Les surfaces superhydrophobes et superhydrophiles semblent également prometteuses pour limiter l'adhésion des microorganismes à leurs surfaces ; ces deux types de surfaces seront brièvement abordées dans la partie « influence de la topographie de surface ».

#### - L'hydratation de surface

L'hydratation de surface est un paramètre très lié à l'hydrophilie. En effet, les matériaux dits hydratés sont des matériaux dont la composition est formée par l'union d'eau et d'une autre substance. Ces matériaux hydratés peuvent contenir des molécules d'eau chimiquement liées au reste de la structure, ou qui peuvent se retrouver dans les cavités du réseau du matériau sans liaison chimique forte (par exemple des liaisons de Van der Waals).

**Influence de la topographie de surface.** La rugosité (caractéristique de l'état de surface d'un matériau ; en mécanique, on note  $R_a$  la Rugosité Moyenne Arithmétique qui indique la rugosité moyenne de la surface, c'est-à-dire l'écart moyen entre les « pics » et les « creux » de la surface) de surface augmenterait la surface disponible pour l'adhésion des microorganismes. Une forte rugosité de surface pourrait également offrir aux microorganismes une protection face aux forces de cisaillement, induisant une augmentation de leur résistance au détachement. Par conséquent, un consensus général est que l'augmentation de la rugosité de surface permet une meilleure adhésion ainsi qu'une meilleure formation de biofilm (Xing et al. 2015 ; Yu et al. 2016 ; Yao et al. 2020). Par exemple,

l'adhésion de *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* et *Ralstonia picketti* était largement favorisée sur des surfaces rugueuses par rapport à des surfaces lisses (James et al. 2019). Park et al. (Park et al. 2019) ont même proposé des valeurs seuil de rugosité qui optimisaient l'adhésion de *S. mutant* sur des surfaces de résine composite : entre 0,15 et 0,35  $\mu\text{m}$ . Cependant, certaines études contredisent l'existence d'une telle valeur seuil de rugosité (Bollen et al. 1996 ; Yu et al. 2016 ; Yoda et al. 2014). Par exemple, les travaux de Bollen et al. (Bollen et al. 1996) ont montré que des implants dentaires, qu'ils soient rugueux ( $R_a = 0,2 \mu\text{m}$ ) ou lisses ( $R_a = 0,06 \mu\text{m}$ ), ne montraient aucune différence de colonisation microbienne après 12 mois. Par ailleurs, même si une augmentation de la rugosité de surface est généralement associée à une augmentation de l'adhésion de microorganismes, cela se révèle être la tendance inverse dans certaines études. Ainsi, d'autres auteurs ont montré qu'une augmentation de la rugosité peut provoquer une diminution de l'adhésion bactérienne (Songmei Wu et al. 2018; Matalon et al. 2021). Ces travaux montrent qu'une rugosité nanométrique ( $R_a = 172,5 \text{ nm}$ ) sur des échantillons d'acier inoxydable pouvait limiter l'adhésion de *P. aeruginosa* et de *S. aureus* par rapport à des surfaces polies de ce même acier ( $R_a = 45,2 - 84,4 \text{ nm}$ ) en diminuant l'aire de contact entre la bactérie et la surface. Ces résultats contradictoires montrent l'absence de consensus en termes de relation entre la rugosité de surface et l'adhésion microbienne. Cela pourrait être attribué au fait que les paramètres décrivant la rugosité de la surface dans la majorité des études prennent en compte les caractéristiques topographiques de façon incomplète. La rugosité de surface moyenne ( $R_a$ ) et la moyenne quadratique de la rugosité de surface ( $R_{rms}$ ) sont les deux paramètres les plus fréquemment utilisés pour caractériser la topographie de surface. Cependant, ces deux paramètres donnent des informations de hauteur mais ne fournissent aucune information sur la distribution spatiale ou la forme des caractéristiques de surface (Crawford et al. 2012). Par exemple, des surfaces avec des structures de surface peuvent avoir des valeurs  $R_a$  et  $R_{rms}$  similaires (Songze Wu et al. 2018). En conséquence, de nouveaux paramètres sont nécessaires pour la caractérisation complète de la topographie de surface.

Cet effet est variable sur les « engineered surfaces » qui ont des caractéristiques topographiques (distribution, taille, espacement, etc...) bien définies. Ces structures peuvent être de différentes formes, comme des piliers, des cônes ou des hémisphères. Par ailleurs, des structures micro voire nanométriques s'inspirant de la nature sont développées. En effet, il a

été montré que les lotus (Barthlott et Neinhuis 1997 ; Bhushan et al. 2009), les requins (Chien et al. 2020), les termites (Watson, Cribb, et Watson 2010), les cigales (Ivanova et al. 2012), les geckos (Watson et al. 2015 ; Li et al. 2017), les papillons (Y. Fang et al. 2007) ou encore les libellules (Bandara et al. 2017) présentaient des micro- et/ou nano-topographies agissant comme une barrière hydrophobe et induisant une adhésion bactérienne extrêmement faible. Dans la littérature, il est bien documenté que les microorganismes ont tendance à s'aligner préférentiellement sur les structures de type « vallée » et « pilier » pour maximiser la zone de contact et par conséquent d'adhésion (Perera-Costa et al. 2014 ; Vasudevan et al. 2014). De nombreuses surfaces avec une topographie composée d'objets de taille inférieure à celle d'un microorganisme ont montré leur potentiel à réduire l'adhésion bactérienne (Yang et al. 2015; Helbig et al. 2016; Xu et Siedlecki 2017; Schwibbert et al. 2019; Tang et al. 2021).

En outre, certains résultats semblent indiquer que les flagelles permettraient aux bactéries d'atteindre des rainures ou anfractuosités, rendant ainsi les bactéries capables d'appréhender les micro- et nano-topographies du matériau et de potentiellement s'y fixer (Lai 2018). De plus, les procédures expérimentales peuvent avoir un impact important sur l'observation de l'adhésion des microorganismes : l'étape de démouillage (Figure 33), étape qui consiste à retirer la totalité du liquide de culture avant les observations en créant un front de démouillage et un passage à l'air, peut potentiellement chasser des cellules faiblement adhérees, qui plus est lorsque la surface est hydrophobe. L'équipe de Diaz (Díaz et al. 2007) a montré une orientation des bactéries suivant une topographie nanométrique de la surface. Cependant, le protocole utilisé au cours de cette étude (démouillage total des surfaces avant observation) est très probablement à l'origine de cette orientation, comme ont pu le démontrer Anselme et al. (Anselme et al. 2010).

En ce qui concerne les levures, Verran et Maryan (Verran et Maryan 1997) ont mis en évidence que *C. albicans* est plus susceptible de s'adhérer aux rayures sur les surfaces qui ont été frottées avec du papier de verre. Les travaux d'Alalwan et al. (Alalwan et al. 2018) ont montré qu'une topographie régulière avec un motif de 120 nm de diamètre réduisait le nombre de *C. albicans* adhérees par rapport à une surface plane ; la disposition des motifs, qu'elle soit hexagonale ou carrée, n'a pas eu d'effet sur l'adhésion. Par ailleurs, Lagree et al. (Lagree et al. 2018) ont montré que sur des revêtements monocouches de particules de silice sphériques monodispersées sur un substrat de PDMS, le biofilm de *C. albicans* s'est développé

différemment en fonction du diamètre des particules de silice : ils ont démontré que l'augmentation du diamètre des particules en monocouche (particules de diamètre  $4,0 \pm 8,0 \mu\text{m}$  contre  $0,5 \pm 2,0 \mu\text{m}$ ) induit une augmentation du biofilm de levure.

Certains auteurs s'orientent vers des modélisations de l'adhésion des microorganismes sur les surfaces aux topographies variables, où le microorganisme est modélisé par une vésicule. Par exemple, Kargar et al. (Kargar et al. 2012) utilisent une approche thermodynamique de type « surface – vésicule rigide » sur des nanofibres. Cette approche est basée sur l'estimation de l'énergie nécessaire pour permettre l'adhésion entre une vésicule rigide et une surface et l'énergie nécessaire à la déformation de la vésicule pour permettre cette adhésion. Néanmoins, ces études ne considèrent pas l'influence des appendices de la bactérie au cours de son adhésion à une microtopographie et excluent donc tout l'aspect biologique de l'adhésion comme l'intervention potentielle de pili.

**Influence des propriétés mécaniques de surface.** La liste des paramètres pouvant décrire les propriétés mécaniques, tous matériaux confondus, est relativement importante. On peut notamment citer la ductilité, la dureté, la fatigue, la ténacité, la viscosité, différents modules (d'élasticité, de flexion, de cisaillement), etc... L'impact du module élastique des matériaux est une nouvelle voie de contrôle de l'adhésion des microorganismes étudiée dans la littérature. Le module d'Young, défini par le rapport de la contrainte à la déformation, est un paramètre commun utilisé pour représenter l'élasticité d'un matériau. Dans ce domaine de recherche émergent, des études sur les surfaces de polydiméthylsiloxane (PDMS), de multicouches de polyelectrolytes (PEM) et de poly(éthylène glycol) diméthacrylate (PEGDMA) ou d'hydrogel d'agar ont montré que la rigidité influence l'adhésion bactérienne différemment selon le substrat : plus les PDMS sont rigides ou plus l'hydrogel ou le PEM sont mous, moins les bactéries adhèrent (Zolk et al. 2000 ; Bakker et al. 2003 ; Lichter et al. 2008 ; Cottenye et al. 2012 ; Guégan et al. 2014 ; Song et Ren 2014 ; Kolewe, Peyton, et Schiffman 2015 ; Saha et al. 2013 ; Wu et al. 2018 ; Keskin et al. 2019 ; Straub et al. 2019). La modification de l'élasticité a modulé la quantité de bactéries adhérentes à des facteurs jusqu'à 200 fois sans qu'il soit nécessaire de modifier la chimie ou la topographie de la surface du matériau. Plus précisément, Song et al. ont montré qu'une augmentation de l'élasticité des matériaux PDMS de 0,1 à 2,6 MPa s'accompagne d'une réduction jusqu'à 200 fois du nombre de bactéries adhérentes (F. Song et Ren 2014). A l'inverse, la quantité de bactéries adhérentes a été réduite

jusqu'à 3,9 fois en diminuant l'élasticité des surfaces d'hydrogel d'agar de 110 à 6,6 kPa (Guégan et al. 2014). Une différence apparente, cependant, existe dans la tendance générale observée entre les quantités de bactéries adhérees sur les matériaux hydrophobes PDMS et hydrogel en général. Ainsi, le paramètre d'hydratation semble être un paramètre crucial à prendre en compte pour cette thématique. Par ailleurs, l'élasticité du substrat influe la mobilité bactérienne. Une étude menée par Song et al. (F. Song et al. 2017) a rapporté qu'*E. coli* présentait une motilité plus élevée à la surface du PDMS dur (2,6 MPa) que du PDMS mou (0,1 MPa), et que la protéine motrice flagellaire motB jouait un rôle important en réponse à l'élasticité du PDMS lors de l'adhésion initiale. Ce sujet, encore peu développé dans la littérature, peut être d'une grande importance pour comprendre le processus de colonisation puisque la mobilité joue un rôle crucial dans l'expansion d'une population bactérienne sur une surface.

Les connaissances concernant l'influence des propriétés mécaniques sur l'adhésion des levures se révèlent être quasi-inexplorées, et aucune littérature, à notre connaissance, relate des mécanismes de *sensing* des propriétés mécaniques de leur environnement par les levures. Deux études abordent toutefois l'influence de l'élasticité du substrat sur l'adhésion fongique. Szekalska et al. (Szekalska et al. 2019) ont montré qu'une augmentation de la rigidité des substrats d'alginate de sodium et d'oligosaccharides d'alginate (d'environ 150 kPa à 300 kPa) induisait une diminution de l'activité antifongique de *C. albicans*, de *C. parapsilosis* et de *C. krusei*. Ainsi, une augmentation du module élastique du substrat favoriserait la dispersion des levures. Toutefois, Cascione et al. (Cascione et al. 2021) ont travaillé sur des résines de poly(méthyl-méthacrylate) (PMMA) auxquelles ils ont rajouté deux types de nanomatériaux différents, à savoir des nanoparticules de dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>NPs) et des nanotubes d'argile halloysite (HNT) à deux concentrations différentes (1% et 3% w/w), et ont montré que l'augmentation de la teneur en TiO<sub>2</sub>NPs et en HNT respectivement induisait une augmentation d'élasticité des surfaces (d'environ 5 GPa à 9 GPa, et d'environ 2,5 GPa à 3,5 GPa, respectivement), mais ne provoquait pas significativement des modifications dans l'adhésion de *C. albicans*.

L'épaisseur du matériau peut également influencer l'adhésion bactérienne. Kolewe et al. (Kolewe et al. 2018) ont démontré que l'adhésion d'*E. coli* et de *S. aureus* était influencée par non seulement la rigidité mais également l'épaisseur d'hydrogels de poly(éthylglycol). Dans

ces travaux, trois régimes de rigidités ont été testé (à savoir mou/intermédiaire/dure correspondant à un module élastique de 30 kPa, 400 kPa et 1 MPa respectivement) sur des hydrogels de PEG avec trois épaisseurs différentes (à savoir fin/intermédiaire/épais correspondant à des épaisseurs de 15  $\mu\text{m}$ , 40  $\mu\text{m}$  et 150  $\mu\text{m}$  respectivement). Ces travaux ont montré que sur les hydrogels les plus épais, l'adhésion bactérienne augmentait avec l'augmentation de l'élasticité de l'hydrogel. Cependant, lorsque l'épaisseur de l'hydrogel a été réduite, une adhésion des bactéries sensiblement plus importante a été observée. Les auteurs ont suggéré que, parce que les modules élastiques des hydrogels minces-mous et épais-mous étaient statistiquement équivalents, les bactéries pouvaient potentiellement sentir le substrat comme étant plus rigide à cause de la lame de verre sous-jacente très rigide.

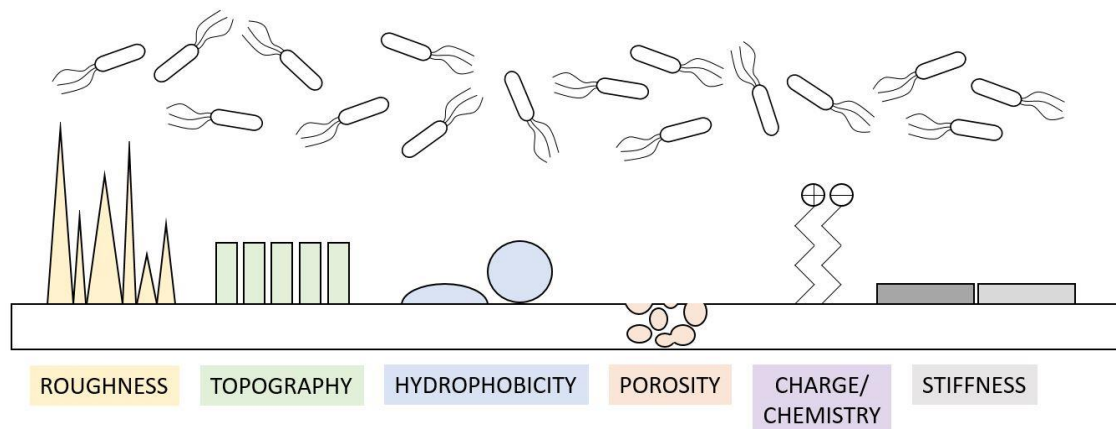


Figure 6 : Paramètres surfaciques d'un matériau pouvant influencer l'adhésion microbienne.

### 3.1.3. Autres facteurs extérieurs

D'autres facteurs peuvent influencer la colonisation microbienne et la formation de biofilm, comme par exemple ceux induisant les mobilités passives des microorganismes (mouvements browniens, phénomènes de sédimentation, de convection et de diffusion, ou flux hydrodynamique), la composition en nutriments du milieu environnant, la concentration en drogues dans ce milieu, le temps d'exposition, le pH ou encore la température.

Les microorganismes peuvent se déplacer passivement près de la surface par mouvements browniens, sédimentation, convection et/ou diffusion. Premièrement, des microorganismes de la taille d'*E. coli* ou de *C. albicans* peuvent être animés par le mouvement brownien, c'est-à-dire déplacés aléatoirement par des collisions avec les petites molécules du fluide, qui sont

soumises à l'agitation thermique. Deuxièmement, les microorganismes peuvent être déplacés passivement et entrer en contact avec une surface via le phénomène de sédimentation (Jassby et Powell 1975). Enfin, le contact initial microorganisme-surface peut être influencé par des phénomènes de convection<sup>7</sup> et de diffusion<sup>8</sup>, qui impliquent le transport de particules dans le fluide en mouvement.

Par ailleurs, les microorganismes peuvent bénéficier des forces hydrodynamiques pour se déplacer et pour entrer en contact avec un substrat (Whitehead et Verran 2006 ; Weaver et al. 2012). Par exemple, sous un écoulement laminaire, le mouvement des bactéries est sensible à cet écoulement, à sa direction et à la contrainte de cisaillement appliquée. Lorsque le régime est turbulent, les mouvements tourbillonnants peuvent faciliter le contact entre les bactéries et la surface, mais le temps d'interaction est réduit, ce qui limite l'attachement irréversible (Whitehead et Verran 2006). Le développement des biofilms fongiques est également impacté par la présence d'un flux hydrodynamique. Notons qu'ils sont capables de se développer dans des conditions d'écoulement très variables ; par exemple, *Candida* peut former un biofilm dans des conditions de faible débit (comme pour des cas de stomatite prothétique sous flux salivaire), de débit rapide (par exemple sous débit sanguin dans des cas d'endocardite), ou de débit intermittent (comme lors d'infection de cathéter urinaire) (Kojic et Darouiche 2004). Les travaux de d'Al-Fattani et de Douglas (Al-Fattani et Douglas 2004; 2006) ont montré que la présence d'un écoulement impactait l'architecture du biofilm de *C. albicans* à l'aide de *modèles in vitro* : les biofilms formés sous flux continu étaient plus denses, plus compacts, et présentaient une concentration plus élevée de MEC que ceux formés en l'absence de flux. Ces premiers biofilms présentaient également une résistance accrue aux antifongiques, notamment à l'amphotéricine B et au fluconazole. Contrairement aux biofilms de *Candida*, ceux d'*Aspergillus* sont soutenus dans des conditions de faible débit (Beauvais et al. 2007).

En outre, le temps de contact entre les bactéries et le matériau influence la formation de biofilm ultérieure : plus le temps de contact augmente, plus les liaisons établies entre les bactéries et le matériau sont renforcées (Boks et al. 2009). Par exemple, Raad et al. (Raad et

---

<sup>7</sup> La convection désigne l'ensemble des mouvements internes tridimensionnels qui animent un fluide.

<sup>8</sup> La diffusion désigne la tendance d'un système à uniformiser sa composition.



al. 1993) ont constaté que la formation de biofilm sur les cathéters veineux centraux était universelle, mais l'étendue et l'emplacement de la formation de biofilm dépendaient de la durée du cathétérisme : les cathéters à court terme (<10 jours) avaient une plus grande formation de biofilm sur la surface externe ; les cathéters à long terme (30 jours) présentaient une formation de biofilm plus importante sur la lumière interne du cathéter. Par ailleurs, la température a une influence directe sur la croissance bactérienne. Gallardo et al. (Gallardo-Moreno et al. 2004) a mis en évidence que la température optimale d'adhésion bactérienne est souvent proche de la température optimale de croissance. La température peut être également un « stress » auquel les microorganismes peuvent s'adapter en formant un biofilm ; ceci implique que des températures loin de la température optimale de croissance peuvent, au contraire, être également favorables à la formation de biofilm (Niederdorfer et al. 2021). Il en est de même pour le pH, la nature des sels et la force ionique qui agit en modifiant la charge de surface apparente du matériau et par conséquent les interactions électrostatiques entre les bactéries et le support (Palmer, Flint, et Brooks 2007 ; Sheng, Ting, et Pehkonen 2008 ; Israelachvili 2011). La composition du milieu environnant influe également la formation de biofilm microbien. Par exemple, la source de carbone et son abondance peuvent grandement influencer l'intégrité du biofilm fongique, à la fois pour *C. albicans* et *C. neoformans* (*C. neoformans* est par exemple capable de former un biofilm en présence de glucose ou de mannose, mais perd cette capacité en présence de galactose, maltose ou lactose) (Martinez et Casadevall 2007 ; Jin et al. 2004).

Finalement, les paramètres influant directement ou indirectement l'adhésion bactérienne sont nombreux. Ceux-ci ont donc des conséquences directes sur la mise en œuvre des protocoles d'étude de l'adhésion et de la prolifération bactérienne qui doivent strictement contrôler l'ensemble de ces paramètres pour des analyses reproductibles ; il est toutefois fréquemment difficile, voire impossible de découpler certains de ces facteurs.

### 3.2. Stratégies de lutte contre la formation de biofilm

Alors que les antibiotiques conventionnels perdent progressivement leur efficacité, un besoin urgent émerge pour développer des méthodes antimicrobiennes alternatives. Cela passe notamment par l'élaboration des surfaces de matériaux potentiellement colonisés, possédant des propriétés antimicrobiennes intrinsèques ou en les rendant antimicrobiennes via l'ajout

d'agents antimicrobiens pour, *in fine*, stopper les colonisations bactérienne et/ou fongique et limiter la propagation des infections.

### 3.2.1. Stratégies curatives : utilisation d'agents bactéricides et fongicides

Pour combattre les colonisations de surfaces par des microorganismes, des agents bactéricides ou fongicides peuvent être incorporés en surface (Donelli et al. 2002; Piozzi et al. 2004; Statz et al. 2008) ou dans la matrice constitutive du revêtement (Yan et al. 2008 ; Ploux et al. 2012 ; Cado et al. 2013 ; Wu et al. 2015 ; Kaur, Harjai, et Chhibber 2016 ; Francolini et al. 2017).

Développées pour tuer ou inactiver les microbes adhérents (Hasan et al. 2013), les surfaces bactéricides et fongicides utilisent par exemple des agents biocides inorganiques en raison de leur multiplicité d'action, principalement attribuée à la libération d'ions (Hajipour et al. 2012). Parmi ces agents, les plus étudiés sont des ions métalliques : l'argent (Jankauskaitė et al. 2017 ; Cai et al. 2017), le cuivre (Noyce, Michels, et Keevil 2006 ; Cady, Behnke, et Strickland 2011), ainsi que certains oxydes métalliques tels que l'oxyde de cuivre (Ren et al. 2009 ; Cioffi et al. 2005), l'oxyde de zinc (Schwartz et al. 2012) ou encore le dioxyde de titane (Khani et Talebian 2017 ; Verdier et al. 2014). En parallèle de ces agents biocides métalliques, d'autres agents biocides sont développés, tels que des polymères organiques (par exemple des polymères quaternaires d'ammonium (Elena et Miri 2018 ; Pant et al. 2017), ou des biocides naturels (tels que les peptides antimicrobiens, des antibiotiques d'origine naturelle, le chitosane ou les lipides (Bazaka et al. 2015). Le choix de l'agent antimicrobien dépend à la fois de sa nature, de la technique d'incorporation ou de fabrication (telles que l'adsorption ou le greffage) et du contexte d'application.

Indépendamment de l'agent antimicrobien sélectionné, ces surfaces peuvent être catégorisées en trois groupes distincts. Premièrement, les surfaces bactéricides et fongicides par contact sont caractérisées par le greffage ou l'inclusion d'agent antimicrobien immobilisé sur le matériau, sans possibilité de libération. Par exemple, le greffage de Magainin I, un peptide antibactérien, permet de réduire l'adhésion de *Listeria ivanovii*, d'*Enterococcus faecalis* et de *Staphylococcus aureus* de 50% par rapport à une surface sans peptide, en provoquant la lyse des quelques bactéries adhérentes (Humblot et al. 2009). Deuxièmement, les surfaces bactéricides et fongicides par libération passive d'agent antimicrobien libèrent cet agent dès la fabrication du matériau. Les travaux menés par Ploux et al. sur des biocéramiques

imprégnées de tétracycline ont par exemple montré une réduction de moitié de la colonisation de *S. epidermidi* en comparaison à une céramique non imprégnée (Ploux et al. 2016). Puis troisièmement, les surfaces bactéricides et fongicides par libération active ou contrôlée d'agent antimicrobien libèrent cet agent par l'intermédiaire de stimuli externe, comme le pH, la température, électrique, magnétique ou encore mécanique (Wei et al. 2017). Par exemple, la colonisation bactérienne d'*E. coli* sur la surface peut être réduite après la libération de nanoparticule d'argent initiée par l'utilisation d'une contrainte mécanique sur le revêtement (Kulaga 2014).

Des méthodes ont également vu le jour pour inhiber le QS, pour notamment diminuer la virulence des microorganismes et augmenter leur sensibilité aux agents antimicrobiens (Parrino et al. 2019). Ces méthodes consistent par exemple au développement d'inhibiteurs chimiques, d'anticorps ou encore d'enzymes capables d'interférer avec les autoinducteurs, nommée quorum quenching (QQ) (Figure 7). Ces stratégies constituent des pistes thérapeutiques prometteuses pour lutter contre les infections microbiennes et pour élargir l'arsenal thérapeutique contre ces microorganismes. Toutefois, de façon globale, le développement des résistances microbiennes face à ces agents antimicrobiens nous incite à développer des stratégies préventives.

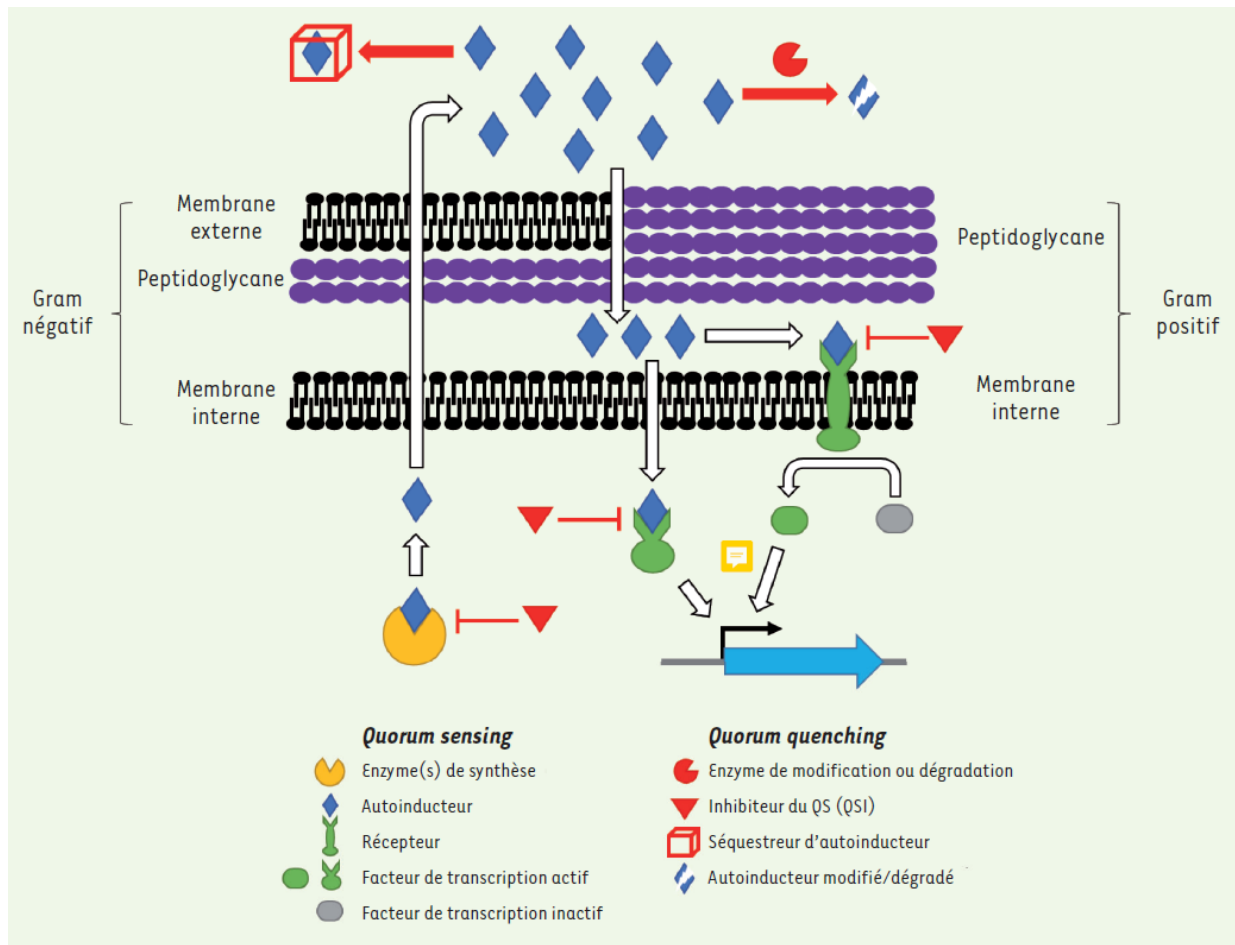


Figure 7 : Mécanismes du quorum sensing bactérien et des différentes stratégies de quorum quenching. Le QS consiste en la production et la perception de molécules signal par les microorganismes. La perception de ces molécules peut être extracellulaire, par des senseurs membranaires qui induisent une cascade de phosphorylation, ou intracellulaire, par des régulateurs de transcription. Dans les deux cas, le QS provoque une activation de certains gènes propices à des comportements de groupe des cellules. Le QQ consiste en l'interruption du QS. Il peut agir au niveau extracellulaire par la dégradation ou séquestration des molécules signal ou intracellulaire avec des inhibiteurs du QS. Image extraite de (Mion et al. 2019).

### 3.2.2. Stratégies préventives : agir avant l'installation des microorganismes pionniers

Tout d'abord, la stratégie première de lutte contre la contamination bactérienne de surface est de limiter toutes les sources de contamination. Même si les bonnes pratiques instaurées sont respectées, elles ne permettent pas de maîtriser totalement les contaminations. Dans cette optique, certaines approches sont étudiées pour entraver la formation du biofilm ou empêcher sa diffusion. Certaines de ces stratégies sont basées sur l'ingénierie des matériaux, où des surfaces antiadhésives sont créées pour prévenir l'adhésion microbienne. Le développement de ces surfaces antiadhésives peut reposer sur la sélection du matériau et de ses propriétés chimiques (mouillage), topographiques (rugosité, texturation), ou encore mécaniques (élasticité, viscosité). De nombreuses études se sont intéressées aux rôles spécifiques de chacune de ces propriétés sur l'adhésion et la formation de biofilm bactérien.

Certaines études évoquent également ces propriétés pour contrôler l'adhésion fongique. Ces études montrent que les propriétés intrinsèques ou surfaciques des matériaux peuvent limiter efficacement l'adhésion des microorganismes et la formation de biofilm.

### 3.2.3. Stratégies hybrides

Comme évoqué précédemment, une diversité de matériaux antimicrobiens, qu'ils soient préventifs ou curatifs, voit le jour. Cependant, malgré leur efficacité générale, ces deux types de méthodes peuvent avoir leurs limites : les surfaces antiadhésives peuvent perdre leur efficacité alors même que peu de microorganismes s'adhèrent, car ils vont progressivement potentiellement former un biofilm ; les surfaces bactéricides, privées des propriétés antiadhésives, sont exposées à une population microbienne agrégée qui peut entraver leur action bactéricide. La combinaison de ces deux approches complémentaires aboutit à une action antimicrobienne « hybride » avec des surfaces antimicrobiennes à double fonctionnalité. On parle alors de revêtements hybrides, c'est-à-dire combinant des stratégies préventives et curatives. Ainsi, elles peuvent consister à développer des surfaces antibactériennes, avec des propriétés *antibiofouling* limitant l'adhésion initiale des microorganismes, mais également avec des propriétés bactéricides, où les surfaces sont généralement enrichies d'un agent bactéricide pour tuer les microorganismes au contact de la surface.

Des études récentes se sont concentrées sur la réalisation de telles surfaces antibactériennes. Certaines s'appuient sur les propriétés antiadhésives des surfaces superhydrophobes, en y greffant par pulvérisation, comme par exemple dans les travaux de Ren et al. (T. Ren et al. 2018), de la silice enrichie de nanoparticules d'oxyde de cuivre agissant comme agent bactéricide. L'équipe de Heinonen et al. (Heinonen et al. 2014) a également développé des surfaces superhydrophobes préparées sur acier inoxydable et contenant des nanoparticules d'argent comme solution antibactérienne hybride. Qian et al. (Qian et al. 2017) ont créé des micro-nanostructures hiérarchiques sur acier inoxydable par assemblage de nanoparticules de polydopamine et d'argent sur un film multicouche, suivi d'un dépôt hydrophobe de fluorocarbure pour présenter un effet antibactérien contre les bactéries Gram-négatives (*E. coli*) et Gram-positives (*S. aureus*). Bien évidemment, différentes techniques d'élaboration de ces techniques hybrides existent, et leur succès repose sur le choix adéquat des deux composantes de ce système hybride (à savoir la partie préventive et la partie curative),

comprenant de nombreux paramètres, comme le choix du substrat, de ses caractéristiques préventives, des substances biocides, de leur stabilité, de leur dosage, ou encore de leur interaction avec le milieu environnant.

## 4. Conclusions et orientation du sujet de thèse

### 4.1. Contexte du travail de thèse

**Contexte et choix du modèle d'étude.** Comme évoqué précédemment, les travaux scientifiques visant à endiguer les problèmes associés à la colonisation de surface non désirée par des microorganismes s'orientent vers de nouveaux moyens de prévenir et de guérir ces infections. Ce mot « prévenir » prend particulièrement son sens dans le cadre de cette thèse, car les travaux de cette thèse cherchent à limiter la venue de « microorganismes pionniers » sur la surface de dispositifs médicaux, pour limiter ensuite leur développement et par conséquent diminuer les risques d'infection. Récemment, une nouvelle stratégie préventive a été proposée pour modifier significativement la colonisation bactérienne : celle-ci repose sur le *design* des propriétés mécaniques intrinsèques du matériau sur lequel les microorganismes pourraient venir adhérer. Selon la littérature, la corrélation entre l'élasticité de surface et l'adhésion bactérienne a été mise en évidence avec des réductions significatives de la colonisation sur des revêtements siliconés aux modules d'Young supérieurs au MPa et sur des revêtements hydratés aux plus faibles modules d'Young (bien inférieurs au MPa) (Zolk et al. 2000 ; Bakker et al. 2003 ; Lichter et al. 2008 ; Cottenye et al. 2012 ; Song et Ren 2014 ; Guégan et al. 2014 ; Kolewe, Peyton, et Schiffman 2015 ; Song et al. 2017 ; Straub et al. 2019 ; Keskin et al. 2019) et une publication évoque également le rôle de la viscosité (Valentin et al. 2019). Ces études portent principalement sur des colonisations à court terme (c'est-à-dire des temps considérés comme des temps d'adhésion, ici 3 h) et les conséquences sur la formation de biofilm sont plus rarement prises en compte. De plus, l'influence de l'élasticité du substrat sur la mobilité bactérienne et sur les mécanismes biologiques impliqués n'a été rapportée que par Song et al. et Straub et al. sur des matériaux siliconés, et dans des conditions expérimentales différentes. Des travaux étudiant simultanément le rôle de l'élasticité ainsi que celui de l'hydratation de surface est donc nécessaire. Par ailleurs, les travaux publiés ne se concentrent que sur les cellules bactériennes : comme évoqué précédemment, la thématique de l'influence des propriétés mécaniques sur l'adhésion de levure ou de champignons est quasi-

totallement absente de la littérature. Or, les colonisations de surface par des levures sont fréquentes, et par conséquent nécessitent une meilleure compréhension des phénomènes sous-jacents, pour pouvoir ensuite imaginer des stratégies de contrôle. Nous avons donc choisi de mener ces travaux de thèse avec également une souche de levure, pour ainsi jeter les premières bases à ce sujet. Les résultats récents de la littérature montrent clairement que le contrôle des propriétés mécaniques de surface est une nouvelle voie originale et prometteuse pour contrôler l'adhésion bactérienne, et également potentiellement l'adhésion fongique. C'est cette stratégie qui a été retenue dans ce travail de thèse.

### **Construction d'une gamme de matériaux avec des élasticités et des hydratations variables.**

Pour les raisons exposées précédemment, une attention particulière a été portée à l'élasticité de substrat ainsi qu'à son hydratation. De façon globale, les modules élastiques des systèmes hydratés oscillent entre quelques Pascal et quelques MPa. A titre d'exemple, des gels de polyacrylamide ont été caractérisés comme ultra-mous avec un module élastique compris entre 17 et 654 Pa (Y. Wang et al. 2016), et des hydrogels à base de polyéthylène glycol ont été caractérisés avec des modules élastiques compris entre 1.8 kPa et 6.5 MPa (Kolewe, Peyton, et Schiffman 2015 ; Kolewe et al. 2018). De façon homologue, les systèmes non-hydratés de type silicone couvrent des rigidités comprises entre 0.26 kPa et 4.5 MPa (Valentin et al. 2019; Siddiqui et al. 2019). Remarquons qu'un système de chimie identique avec un très large éventail d'élasticité, allant de l'ultra-mou (quelques Pa) au rigide (quelques MPa), n'est pas encore développé à notre connaissance.

Dans cette étude, nous avons opté pour des matériaux pouvant mimer les propriétés mécaniques de tissus du corps humain en termes d'élasticité et d'hydratation et qui sont d'ores et déjà utilisés dans le développement de DM. Ces tissus peuvent être comparés à des matériaux mous et hydratés (comme le mucus ou le cerveau), et des matériaux moins hydratés dont les propriétés de rigidité sont comprises entre le mou et le rigide (comme les muscles, la peau ou le cartilage) (Figure 8).

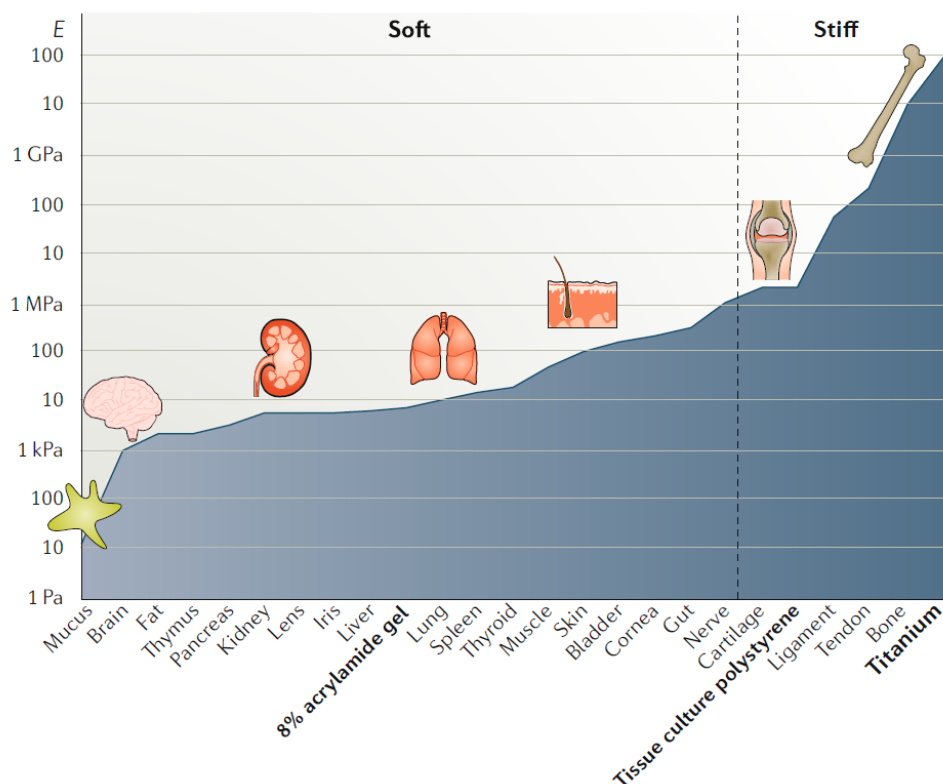


Figure 8 : Image extraite de la revue [Guimarães et al. 2020](#). Les modules d'élasticité (E) de différents tissus varient de la dizaine de Pa au Giga Pa.

Nous nous sommes ainsi orientés vers des hydrogels d'acide hyaluronique (HA) développés au sein du laboratoire INSERM 1121 Biomatériaux et Bioingénierie pour représenter les matériaux mous et hydratés, et des substrats de polydiméthylsiloxane (PDMS) pour représenter les matériaux souples et rigides non-hydratés. Outre la particularité d'être biocompatibles et transparents, ces deux types de matériaux ont des élasticités modulables, notamment en modifiant leurs taux de réticulation.

**Introduction du modèle non-hydraté : les PDMS.** Le terme « silicone » est un nom générique qui regroupe plusieurs catégories de polymères organo-siliciés contenant des liaisons siloxane Si-O. Parmi eux figure le PDMS, de formule brute  $(C_2H_6OSi)_n$ . Ce polymère est obtenu à partir de silice  $SiO_2$ , disponible à l'état naturel sous forme de sable ou de quartz.

Le PDMS est retrouvé pour diverses utilisations, il est utilisé en tant que matériau composant des DM dans le domaine biomédical (Sta Apolónia et al. 2019), mais peut également servir dans l'industrie alimentaire en tant qu'additif alimentaire (E900), comme agent antimoussant par exemple (Bergeron et al. 1997), dans l'industrie cosmétique en tant que conditionneur capillaire (Lim, Park, et Kim 2010), dans l'industrie des textiles comme agent hydrophobe (C.-



H. Xue et al. 2016), dans les adhésifs comme par exemple la résine de timbre-poste (Lalo et al. 2009), et dans de nombreuses autres applications dans l'électronique, la micro-optique, la chimie des capteurs, la nanofabrications, etc...

L'une des raisons de la large utilisation des silicones réside dans les propriétés physico-chimiques particulières de la liaison Si-O en comparaison avec la liaison C-C. Premièrement, les liaisons silicium-oxygène sont plus longues, avec un angle plus ouvert et avec une énergie de rotation plus faible que les liaisons carbone-carbone (Tableau 2) : au niveau macromoléculaire, la molécule est très flexible. Cette mobilité théorique est confirmée expérimentalement par la température de transition vitreuse particulièrement faible du PDMS, et par ailleurs bien inférieur à son homologue carboné, le polysobutylène. Cette flexibilité l'amène à faire partie des polymères viscoélastiques. Le PDMS présente ainsi des caractéristiques intéressantes : sa longueur de chaîne a peu d'impact sur son état physique à température ambiante (il peut conserver un état liquide malgré de forts degrés de polymérisation), et la forte polarisation des liaisons siloxanes conduit à une résistance à la dégradation homolytique (amélioration de son état de robustesse vis-à-vis des phénomènes de dégradations par oxydation (Colas 2005). A partir du squelette polydiméthylsiloxane, il est possible de générer une grande variété de nouvelles structures en y ajoutant des groupements organiques. Cet ajout de groupements, ainsi que sa variabilité de degré de polymérisation, font que le PDMS peut se présenter sous de nombreuses formes (gommes, fluides, cires, résines, etc...).

Tableau 2 : Caractéristiques de la liaison silicium-oxygène. Tableau extrait de Garaud 2008

<b>Liaison Si-O</b>	
<b>Longueur de liaison (Å)</b>	1,63 (Si-O)
<b>Angle de liaison (°)</b>	130 (Si-O-Si)
<b>Energie de rotation de liaison (kJ/mol)</b>	3,3 (Me <sub>2</sub> Si-O)
<b>Température de transition vitreuse (K)</b>	146 (polydiméthylsiloxane)
<b>Caractère ionique (%)</b>	50 (Si-O)

Afin de répondre aux exigences réglementaires pour être mis sur le marché, des études sur les aspects toxicologiques ainsi qu'environnementaux des silicones ont été menées. Les études de toxicologiques (Colucci et al. 2018 ; Sreekantan et al. 2020) confirment l'innocuité de ces matériaux dans les domaines d'utilisation et les niveaux d'exposition préconisés. Cependant, les PDMS ne sont pas des matériaux biodégradables (Stevens 1998).

**Introduction du modèle hydraté : hydrogel d'acide hyaluronique.** Le choix du modèle de substrat hydraté de ces travaux s'est orienté vers des hydrogels d'acide hyaluronique dont la conceptualisation a été réalisée au laboratoire, par le Dr. Varvara Gribova (Gribova et al. 2020). L'acide hyaluronique est un polymère biodégradable naturel de poids moléculaire variable. Le HA est un glycosaminoglycane (GAG) linéaire (non ramifié) et non sulfaté, et est composé d'unités di-saccharidiques répétitives de N-acétyl-D-glucosamine et d'acide D-glucuronique liées chimiquement par des liaisons glycosidiques alternées  $\beta$ -(1,4) et  $\beta$ -(1,3) (C. E. Schanté et al. 2011 ; Simkovic 1999).

L'acide hyaluronique est largement distribué dans tout le corps humain et constitue un élément majeur de la MEC (Scott 1995 ; Rhodes et Simons 2007 ; Zhu 2010). Il est présent dans presque tous les fluides biologiques, y compris le liquide synovial et l'humeur vitrée de l'œil (Zawko et al. 2009). La fonction principale de le HA est de créer du volume et de fournir des lubrifiants aux tissus, empêchant ainsi les dommages cellulaires induits par divers stress physiques (Romagnoli et Belmontesi 2008). La plupart des glycosaminoglycanes sont fabriqués dans les réseaux de Golgi de la cellule, et une classe de protéines membranaires appelées hyaluronane synthases synthétise le HA, dont HAS1, HAS2 et HAS3 pour les vertébrés (Tien et Spicer 2005). Par ailleurs, le HA est une molécule dégradable. Jansen et al. (Jansen et al. 2004) ont étudié les effets cytotoxiques possibles, la biocompatibilité et la dégradation d'un conduit à base d'HA pour la réparation des nerfs périphériques. Les résultats montrent qu'un conduit à base d'HA n'est pas cytotoxique et présente une bonne biocompatibilité. Par ailleurs, le HA est hautement non antigénique et non immunogène, en raison de sa forte homologie structurelle entre les espèces et de sa faible interaction avec les composants sanguins (Amarnath, Srinivas, et Ramamurthi 2006).

Le HA a été commercialisé pour la première fois en 1942 lorsque Endre Balazs a déposé une demande de brevet pour l'utiliser comme substitut du blanc d'œuf dans les produits de boulangerie. Depuis, son utilisation a largement évolué. Les propriétés de biocompatibilité du

HA lui ont permis d'être utilisé dans différentes applications biomédicales. La première application médicale du HA chez l'Homme était en tant que remplacement du corps vitré lors d'une chirurgie oculaire à la fin des années 1950. Au cours des deux dernières décennies, le HA est devenu un matériau de grande importance en médecine moderne et il a été largement utilisé en ingénierie tissulaire, et en chirurgie esthétique (Zhu et al. 2017 ; Abatangelo et al. 2020). Le HA utilisé a été initialement isolé du cordon ombilical humain ; il a ensuite été isolé de nombreuses autres sources. Aujourd'hui, les poudres d'HA sont extraites de la crête de coq ou par bio-fermentation bactérienne. Des efforts sont réalisés pour augmenter les rendements de production à partir de bactéries génétiquement modifiées (*Streptococcus equi*) avec des méthodes peu coûteuses (Schanté et al. 2011).

#### 4.2. Objectif et plan de la thèse

Nos travaux cherchent ainsi à étudier les comportements bactériens et fongiques sur des matériaux déjà utilisés dans le domaine médical ou récemment développés comme biomatériaux, à savoir des substrats siliconés PDMS (non hydratés) et sur des substrats hydrogels à base d'acide hyaluronique (hydratés). Plus particulièrement, nous nous sommes intéressés à l'influence de l'élasticité et de l'hydratation des substrats sur l'adhésion, la mobilité cellulaire, la formation de biofilm et de mécanismes biologiques sous-jacents.

Ces recherches fondamentales ont pour but de mieux comprendre le comportement des microorganismes adhérents sur des surfaces à élasticité variables et à l'hydratation différente. L'objectif est de donner des premières indications pour pouvoir cibler des matériaux avec un couple élasticité/hydratation adéquat pour prévenir l'adhésion des microorganismes pionniers. Cela permettrait de proposer voire de développer des matériaux avec des propriétés mécaniques spécifiques pour des DM, pour *in fine* limiter, par exemple, les infections microbiennes de prothèses ou de cathéters et de répondre ainsi à un problème de santé publique majeur.

## Chapitre 2. Matériels et méthodes

1. Synthèse des biomatériaux.....	63
1.1. Modèle non-hydraté : les PDMS .....	63
A. Boîte de culture Ibidi® avec un coating de PDMS .....	63
B. PDMS avec une finition manuelle.....	64
C. PDMS birigidité.....	64
1.2. Modèle hydraté : les hydrogels HA/ BDDE.....	65
2. Caractérisation des biomatériaux.....	66
2.1. Caractérisation mécaniques des biomatériaux.....	66
A. Caractérisation de « bulk » par rhéologie .....	66
B. Caractérisation d'extrême surface par nanoindentation.....	67
2.2. Autres caractérisations des biomatériaux.....	68
A. Hydratation.....	68
B. Mouillabilité .....	68
C. Chimie.....	70
D. Topographie .....	71
3. Etudes de l'interaction microorganismes-matériaux .....	71
3.1. Description des souches sélectionnées.....	71
A. Souches bactériennes .....	72
B. Souche fongique.....	72
3.2. Culture microbiologique sur les matériaux .....	73
3.3. Etudes de l'adhésion, de la formation de biofilm et de la mobilité .....	74
A. Observations des microorganismes par microscope confocal .....	75
B. Etude à temps court : adhésion et mobilité .....	76
C. Etude temps long : formation de biofilm .....	82
4. Etudes du mécanisme d'adhésion bactérienne et fongique.....	83



## 1. Synthèse des biomatériaux

Cette première partie de ce chapitre décrit la construction d'une gamme en élasticité de matériaux avec des hydratations différentes, en détaillant les caractéristiques des deux modèles de matériaux choisis, à savoir le PDMS et l'hydrogel d'acide hyaluronique.

### 1.1. Modèle non-hydraté : les PDMS

Dans ces travaux, nous avons choisi le PDMS comme matériau non hydraté. Le PDMS est un substrat biocompatible, inerte, transparent et sa rigidité peut être contrôlée de différentes manières. Il a été utilisé sous forme de film plus ou moins épais (premier modèle de 40  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, présenté dans la partie A. *Boîte de culture Ibidi® avec un coating de PDMS*, et second modèle d'environ 1.5 mm d'épaisseur, présenté dans la partie B. *PDMS avec une finition manuelle*).

#### A. Boîte de culture Ibidi® avec un coating de PDMS

Nous avons réalisé des expérimentations sur des  $\mu$ -dishes 35 mm, high ESS (Ibidi®) avec un recouvrement en PDMS présentant différentes rigidités : modules d'Young de 1.5 kPa (Ibidi® 81291) et de 15 kPa (Ibidi® 81391) (Figure 9). Pour tester un substrat plus dur, nous avons également utilisé des  $\mu$ -dishes 35 mm avec un fond en verre sur lequel un échantillon d'environ 1  $\text{cm}^2$  découpé d'une feuille de PDMS (Staticce, Besançon, France) était déposé. Le module d'Young de cette feuille est estimé à 2,5 MPa (donnée fournie par le fabricant). Des  $\mu$ -dishes 35 mm avec un fond en verre, de rigidité supra-physiologique de l'ordre du GPa, ont été utilisés comme surface contrôle.

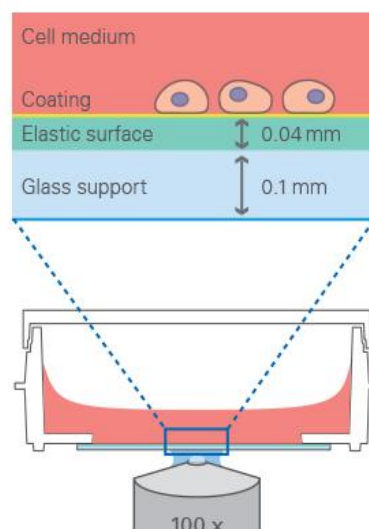


Figure 9 : Représentation d'une boîte de culture Ibidi® avec un coating de PDMS. Illustration extraite de <https://ibidi.com>

### *B. PDMS avec une finition manuelle*

Nous avons aussi souhaité étudier le comportement des microorganismes sur des PDMS avec une finition manuelle pour un meilleur contrôle de l'élasticité des substrats.

Cet élastomère polymérise par polyaddition à l'aide d'un agent de réticulation. On parle alors de la préparation d'un mélange base/agent réticulant, avec des ratios variables. Ainsi, les surfaces PDMS ont été préparées à l'aide du kit d'élastomère de silicone SYLGARD 184 (Dow Corning Corporation). La rigidité a été ajustée en faisant varier le rapport massique de l'agent de durcissement à la base (les ratios 1:80, 1:40, 1:20, 1:10 et 1:5 ont été testés lors de ces travaux). Pour chaque ratio, la base élastomère et l'agent de durcissement ont été soigneusement mélangés. L'épaisseur de l'élastomère était d'environ 1,5 mm (Figure 29-B). Ensuite, le mélange a été versé dans une coupelle en plastique et laissé durcir à 120 °C pendant 20 minutes et incubé à température ambiante pendant 24 heures pour polymériser. Ce protocole a été réalisé en s'appuyant sur des protocoles déjà publiés (F. Song et Ren 2014; Ehlinger et al. 2021) et des données fournies par le fabricant. L'élastomère polymérisé a été découpé en disques de 8 mm de diamètre à l'aide d'un punch à biopsie, puis a été stérilisé par rayonnement ultraviolet (UV) pendant 30 min. Les substrats PDMS ont été conservés à température ambiante jusqu'à utilisation (maximum une semaine). Au vu de ce faible temps de conservation, les caractérisations des propriétés après vieillissement n'ont pas été réalisées ; après ce temps de conservation, les échantillons ne présentaient pas de dégradation visible à l'œil nu.

### *C. PDMS birigidité*

Nous avons également souhaité observer les comportements des microorganismes à la frontière de PDMS de deux rigidités différentes. Pour ce faire, un protocole permettant de créer des matrices PDMS constituées de deux matrices adjacentes, de deux rigidités différentes, a été utilisé. Ce protocole a été mis en place par le Dr Claire Ehlinger (Ehlinger et al. 2021). Les matrices birigidité ont été obtenues en combinant deux PDMS sous deux formes réticulées (Figure 10). Nous avons testé les combinaisons 1:80/1:5 et 1:40/1:5. En premier lieu, le support anneau en téflon de 2 mm d'épaisseur et de 2 cm de rayon/cube en bois de 0.8 cm de côté/disque en téflon a été monté à l'aide de pinces amovibles. Ensuite, le PDMS dur est versé dans l'espace entre l'anneau et le cube ; le montage est incubé pendant 35 min à 125°C. Après cette étape, le cube, qui était au centre de l'anneau afin de préserver un espace

libre pour le PDMS mou, a été soigneusement retiré. L'espace libre a été ensuite rempli par du PDMS mou, puis laissé polymériser toute une nuit à température ambiante ; les pinces ainsi que l'anneau et le disque en téflon sont ensuite délicatement enlevés. Les matrices PDMS birigidité résultantes présentent ainsi une zone centrale de PDMS mou entourée par une zone de PDMS dur. Elles sont conservées à température ambiante jusqu'à utilisation.

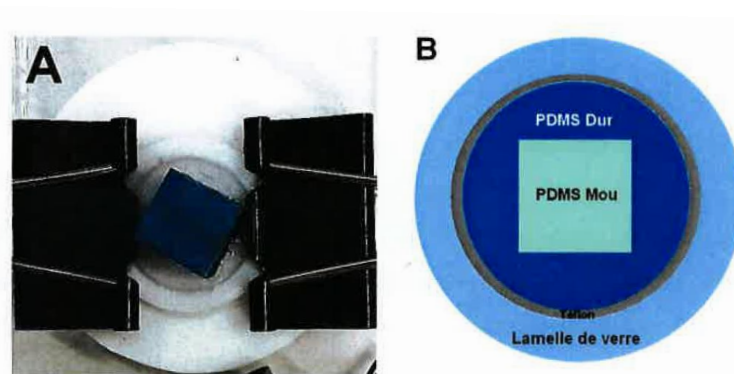


Figure 10 : Préparation de PDMS birigidité. (A) coulage du PDMS dur entre le cube et l'anneau en téflon, le système reposant sur un disque en téflon. Le cube sera ensuite retiré pour laisser un espace vide, rempli ultérieurement par du PDMS mou. (B) Schématisation du système. Image extraite du manuscrit de thèse de Claire Ehlinger, 2020.

## 1.2. Modèle hydraté : les hydrogels HA/ BDDE

Les hydrogels d'acide hyaluronique (HA1M, Lifecore Biomedical, Etats-Unis) ont été fabriqués avec de l'éther diglycidyle de 1,4-butanediol (BDDE) comme agent de durcissement. Brièvement, la réticulation chimique est une méthode couramment utilisée pour améliorer le comportement mécanique de le HA. Ces matériaux sont simples de production, et peuvent être chargés en molécules antimicrobiennes (Gribova et al. 2020).

Des tests préliminaires ont été réalisés sur les hydrogels avec des ratios HA/agent réticulant et des poids moléculaires de HA variables. Ainsi, ont été testés les ratios (v/v) HA/BDDE 5%, 10%, 15%, 20%, 30% et 40%, avec des poids moléculaires d'acide hyaluronique de 108 kDa, 823 kDa, et 2670 kDa. Les gels à base de HA 108 kDa et 2670 kDa n'ont pas été retenus pour la suite des travaux car les matériaux restaient sous une forme visqueuse non manipulable après un temps de réticulation de 72 h à 37°C. La même observation a été faite pour l'hydrogel HA 823 kDa 5% HA/BDDE, qui a donc été exclu de l'étude. Par ailleurs, au-delà du ratio 30%, les hydrogels avaient une texture friable et n'ont donc pas été sélectionnés pour les travaux. Nous avons donc choisi de travailler sur des hydrogels HA 823 kDa 10% HA/BDDE, 20% HA/BDDE et 30% HA/BDDE pour représenter trois modèles avec des taux d'agent de réticulation faible, intermédiaire et fort.



Ainsi, brièvement, 1 mL d'une solution 0,038 mM de HA (MW = 823 kDa) dans NaOH (0,25 M) a été préparé et mélangé avec 10 %, 20% et 30 % de BDDE (v/v) pour créer les hydrogels que l'on nommera dans la suite de ces travaux des 10% HA/BDDE, 20% HA/BDDE et 30% HA/BDDE, respectivement. Le mélange a été versé dans une boîte de Pétri de 35 mm de diamètre et laissé à 37°C pendant 72 h. L'hydrogel HA a ensuite été découpé en disques de 8 mm à l'aide d'un punch à biopsie circulaire, préalablement stérilisé aux UV pendant 30 min (Figure 29-A). Les échantillons d'hydrogels HA ont été conservés à 4°C jusqu'à utilisation.

## 2. Caractérisation des biomatériaux

Une fois les matériaux à base de PDMS et d'HA produits, une caractérisation de leurs propriétés mécaniques (par rhéologie et par nanoindentation), de leur chimie, et leur topographie ainsi que de leur mouillabilité et de leur hydratation a été réalisée.

### 2.1. Caractérisation mécaniques des biomatériaux

Nous nous proposons dans les parties A. et B. ci-dessous d'exposer nos méthodes de mesures de l'élasticité de nos matériaux, donnant des informations d'élasticité de surface et de viscoélasticité du « bulk ».

#### A. Caractérisation de « bulk » par rhéologie

Typiquement, l'échantillon est placé entre deux plans, ou d'autres géométries telles qu'un cône et un plan. L'appareil est constitué d'un moteur piloté en couple et en vitesse. Au bout de l'axe du moteur, différentes têtes (ou plateaux), correspondant à différentes géométries, peuvent être montées sur l'appareil, notamment des géométries planes ou coniques. L'application d'un couple au plan supérieur exerce une contrainte de cisaillement sur le matériau, et la déformation ou le taux de déformation résultant est mesuré (Figure 11).

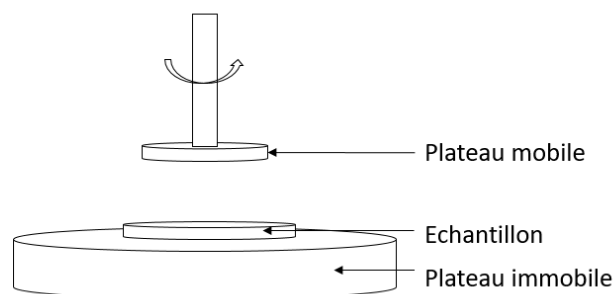


Figure 11 : Schématisation des plateaux d'un rhéomètre.

Dans ces travaux, la viscoélasticité a été étudiée à l'aide d'un rhéomètre rotatif KinexusUltra (Malvern, Grande-Bretagne) équipé d'un régulateur de température réglé à 25°C. Les mesures rhéologiques ont été réalisées en conditions sèches avec une géométrie plaque-plaque (plateau parallèle de diamètre 20 mm) pour les matériaux PDMS et une géométrie plaque-cône (angle de 4°) pour les hydrogels HA. Des disques de PDMS de 20 mm de diamètre et de 1,5 à 2,0 mm d'épaisseur ont été déposés sur la plaque supérieure. L'échantillon a été compressé sous 20 N. Des mesures ont été effectuées pour une fréquence de 0,01 Hz à 50 Hz pour capturer l'évolution des modules élastique ( $G'$ ) et visqueux ( $G''$ ) pendant 30 min. Toutes les mesures ont été répliquées au moins 3 fois.  $G'$  et  $G''$  ont été mesurés à la fréquence la plus élevée avant la région vitreuse (Djabourov, Nishinari, et Ross-Murphy 2013).

### B. Caractérisation d'extrême surface par nanoindentation

Pour compléter l'étude menée avec le rhéomètre, donc caractérisant les propriétés de *bulk* de l'échantillon, une étude des propriétés mécaniques d'extrême surface a été effectuée. Ces propriétés mécaniques sont celles potentiellement senties par les microorganismes venant au contact de la surface. Pour cela, nous avons utilisé un appareil de nanoindentation, le Chiaro® nano-indenter (Optics11 Life, The Netherlands) (Figure 12). Cet instrument utilise une sonde monobloc constituée d'une fibre optique, d'un cantilever et d'une pointe sphérique. Lorsque la sonde (qui est auto-alignée et pré-calibrée) touche l'échantillon, le cantilever se plie et ce déplacement est détecté par la fibre optique. À l'aide de l'interférométrie, l'instrument mesure la trajectoire de la lumière. Les mesures peuvent être effectuées pendant que l'échantillon est immergé dans du milieu M63. L'instrument Chiaro est associé à un microscope inversé.

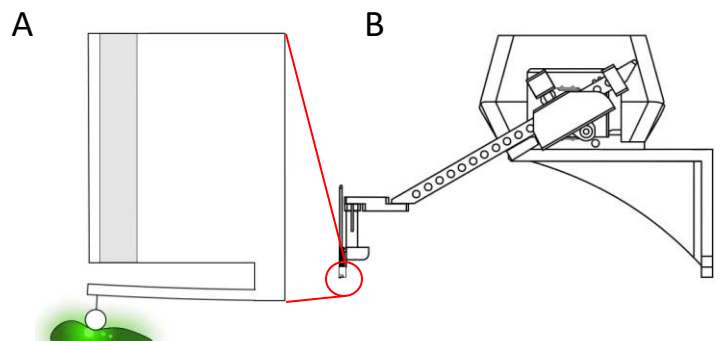


Figure 12 : Schématisation du nanoindenteur Chiaro. (A) Lorsque la pointe touche l'échantillon, le cantilever se déforme ; ces déformations sont détectées par une fibre optique. (B) Le système, portable, est conçu pour être couplé à un microscope inversé. Illustration extraite de <http://www.optics11life.com>

L'analyse par nanoindentation a été réalisée dans un liquide (milieu M63) avec une constante de ressort du cantilever et un rayon de la sonde sphérique adéquats à la surface (2,90 N/m et 23,5 µm pour 1:5 PDMS ; 0,53 N/m et 25,5 µm pour 1:80 PDMS ; 0,53 N/m et 25,5 µm pour HA 30 % ; 0,027 N/m et 24,5 µm pour HA 10 %). Les mesures ont été effectuées sur un quadrillage et avec une distance de 20 µm entre deux emplacements d'indentation successifs. Ils ont été répétés 25 fois, 29 fois, 28 fois et 17 fois sur des matériaux 1:5 PDMS, 1:80 PDMS, 30% BDDE/HA et 10% BDDE/HA, respectivement. Les modules de Young ont été calculés par le modèle de Hertz (Kontomaris et Malamou 2020).

## 2.2. Autres caractérisations des biomatériaux

### A. Hydratation

L'hydratation des matériaux PDMS et HA a été évaluée comme leur teneur en eau après hydratation maximale. Des échantillons de matériau de 8 mm de diamètre ont été pesés avant immersion ( $w_1$ ) dans de l'eau distillée pendant 24 h à température ambiante. Après ce temps, l'excès d'eau sur les échantillons a été très délicatement enlevé avec du papier absorbant, et les échantillons ont été pesés ( $w_2$ ). Ils ont ensuite été déshydratés dans une étuve à 30°C pendant 72 h et pesés ( $w_3$ ). La teneur en eau est calculée comme dans l'équation ci-dessous. Les mesures ont été répétées sur trois échantillons indépendants pour chaque type de matériau. Les résultats sont affichés sous forme de moyenne et d'écart-type des trois mesures.

$$\text{Hydratation (\%)} = 100 \times \frac{w_2 - w_3}{w_2}$$

### B. Mouillabilité

Le caractère hydrophile ou hydrophobe des surfaces sur lesquelles nous avons travaillé a été déterminé par la méthode de l'angle de contact à l'équilibre. Cette technique permet de mesurer l'angle  $\Theta$  formé entre la surface et une goutte d'eau. Cet angle est directement relié à l'énergie de surface du substrat. Il correspond à l'angle qui minimise les énergies interfaciales liquide/vapeur  $\gamma_{LV}$ , solide/vapeur  $\gamma_{SV}$  et liquide/solide  $\gamma_{SL}$ . Il est dicté par la relation de Young-Laplace :

$$\gamma_{SV} - \gamma_{SL} - \gamma_{LV} \cos \Theta_c = 0$$

Lorsqu'une goutte de liquide est déposée sur une surface, elle s'étale plus ou moins en fonction de ces trois forces qui s'appliquent sur la goutte. Plus l'énergie de surface est

importante, plus la goutte s'étalera sur la surface et plus l'angle de contact mesuré sera petit. Inversement, plus l'énergie de surface est faible, plus la surface de contact goutte-solide sera grande. Une surface est considérée comme hydrophile quand  $\Theta$  est inférieur à  $90^\circ$ , tandis qu'une surface est considérée comme hydrophobe lorsque  $\Theta$  est supérieur à  $90^\circ$  (Figure 13).

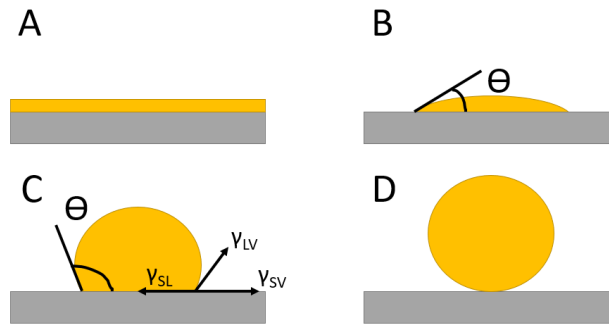


Figure 13 : Types de mouillages. (A) mouillage total. (B) Mouillage partiel, hydrophile. (C) Mouillage partiel, hydrophobe. (D) Mouillage nul.

Les mesures ont été effectuées avec un tensiomètre Attension® Theta (Biolin Scientific, Suède). La méthode de la goutte sessile a été utilisée pour évaluer l'angle de contact à l'équilibre ( $\Theta$ ) d'une goutte d'eau distillée de  $5 \mu\text{L}$  sur la surface de l'échantillon. Brièvement, la goutte a été déposée sur la surface du matériau via une aiguille de diamètre intérieur à  $0,7 \text{ mm}$ . Des vidéos d'une minute ont été capturées par une caméra CCD (1 image/0,07 s). Les valeurs de  $\Theta$  ont été extraites des images en utilisant des ajustements numériques de la forme des gouttelettes sur la base d'un modèle de Laplace-Young. Les résultats sont affichés sous forme de moyenne et d'écart-type d'au moins deux mesures par matériau. Pour les hydrogels HA, la mesure précise de l'angle de contact était impossible en raison de l'absorption rapide de la goutte d'eau dans le matériau (Figure 14). Une valeur estimée a été obtenue à partir de la dernière image avant le début de l'absorption.

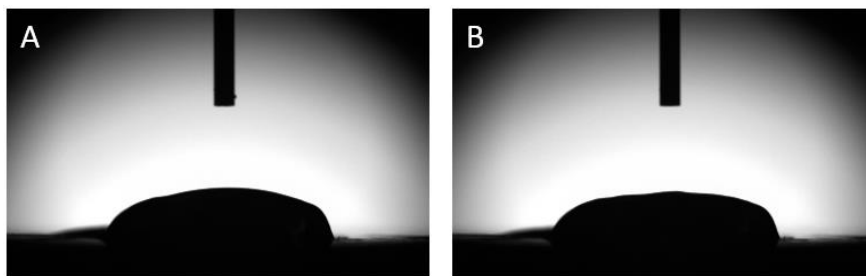


Figure 14 : Mesure d'angle de contact sur 10% HA/BDDE. (A) 1 s après le dépôt de la goutte. (B) 60 s après le dépôt de la goutte.

### C. Chimie

La composition chimique des surfaces PDMS 1:80, PDMS 1:5, ainsi que les hydrogels 10% HA/BDDE et 30% HA/BDDE, a été déterminée par spectroscopie photo-électronique à rayons X (XPS) sur un spectromètre VG SCIENTA SES-2002 équipé d'une source de rayons X monochromatique Al K $\alpha$  (1486 eV) à une puissance de 420W (14 kV, 30 mA). Les expérimentations ont été réalisées en collaboration avec le laboratoire IS2M (Institut de Science des Matériaux de Mulhouse, Mulhouse, France).

Brièvement, la spectrométrie photo-électronique X est une méthode physique d'analyse chimique, mise au point dans les années 1960. Dans une expérience XPS, l'échantillon est bombardé par des rayons X d'une certaine longueur d'onde, ce qui émet un photoélectron qui est par la suite détecté. Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de l'énergie cinétique  $E_c$  des électrons émis par un solide sous l'impact d'un faisceau de photons X d'énergie  $h\nu$ . Tout électron de cœur ou de valence ayant une énergie de liaison  $E_L$  inférieure à  $h\nu$  peut être éjectée. Le reste de l'énergie est transféré à l'électron sous la forme d'énergie cinétique  $E_c = h\nu - E_L$ . Le spectre en énergie cinétique présente donc des pics, et nous pouvons déterminer l'énergie de liaison  $E_L$  correspondant à chaque pic. L'émission des photons donne des pics XPS essentiellement caractéristiques de la nature de l'atome et de son environnement chimique, ce qui permet de déterminer la composition de l'échantillon (sur une profondeur d'environ 50-100 Å).

L'analyse XPS a été réalisée sous une pression de  $10^{-9}$  mbar sur des zones d'environ 4 mm  $\times$  6 mm et avec une énergie de balayage de 500 eV pour le spectre général et de 100 eV pour les spectres haute résolution du carbone (C1s), de l'oxygène (O1s) et silicium (Si2p). Les pics ont été déconvolués à l'aide du logiciel CasaXPS® (Casa Software Ltd) en plusieurs composantes à fonction symétrique. Les énergies de liaison ont été définies sur la base de la littérature et tous les composants ont été référencés selon le composant CH<sub>x</sub>/C-C à 285,0 eV (Beamson et Briggs 1993). La quantité et le pourcentage atomique des éléments ont été déterminés en mesurant les aires des pics, qui ont été en outre corrigées par la fonction de transmission du spectromètre, les facteurs de sensibilité de Scofield et le libre parcours moyen (Briggs 1998).

#### D. Topographie

La topographie de surface des matériaux PDMS (exclusivement les PDMS 1:80 et PDMS 1:5) et HA (exclusivement 10% HA/BDDE et 30% HA/BDDE) a été analysée par microscopie à force atomique (AFM).

L'AFM est un type de microscope à sonde locale permettant de visualiser, par exemple, la topographie de la surface d'un échantillon. Il est constitué d'une pointe placée au bout d'un levier et d'un système optique utilisant un laser pour détecter les déviations de la pointe. Quand la pointe est déplacée le long de la surface de l'échantillon, la déviation du rayon laser permet de mesurer la hauteur de la pointe et ainsi le profil de la surface. L'AFM permet donc de visualiser la topographie des surfaces jusqu'à des résolutions atomiques. Dans ces travaux, la topographie a été analysée sous le mode « contact ». Le mode contact consiste à utiliser les forces répulsives : la pointe appuie sur la surface, elle est donc repoussée du fait du principe de Pauli, et le levier est dévié. La mesure de la déviation de la pointe passe par celle de la position du faisceau laser réfléchi, ce qui s'effectue au moyen d'un quadrant de photodiodes (la photodiode circulaire est divisée en quatre parts égales).

Les images AFM ont été acquises avec un microscope AFM Bioscope® (Veeco, Santa Barbara, USA) et une sonde en porte-à-faux ScanAsyst® Fluid (Bruker AFM Probes) en nitrure de silicium avec un revêtement arrière en or réfléchissant (constante du ressort : 0,7 N/m ; géométrie triangulaire ; rayon de la pointe : 20 nm). L'analyse a été réalisée avec une résolution de 512 x 512 pixels et une vitesse de balayage de 0,5 Hz. Les échantillons de matériau ont été immergés dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) pendant l'analyse. Une zone de 20 µm × 20 µm a été acquise par échantillon. Les images AFM ont été traitées et la rugosité de surface moyenne ( $S_a$ ) a été calculée avec le logiciel Gwyddion® (Department of Nanometrology, Czech Metrology Institute, République Tchèque).

### 3. Etudes de l'interaction microorganismes-matériaux

#### 3.1. Description des souches sélectionnées

Pour ces travaux, procaryote et eucaryote ont été utilisés : des bactéries (*E. coli*) et des levures (*C. albicans*).

### A. Souches bactériennes

***Escherichia coli* SCC1.** La bactérie modèle *Escherichia coli* (*E. coli*) K12 SCC1 (Miao et al. 2009) (Université de Technologie de Nanyang, Singapour) a été choisie dans ces travaux. Il s'agit d'une bactérie *E. coli* MG1655, disposant d'une inclusion GFP (Green Protein Fluorescent) dans son génome (Figure 15). Les bactéries obtenues produisent alors naturellement de la GFP. Ces molécules, lorsqu'elles sont soumises à une excitation laser à 488 nm, émettent dans le vert autour de 510 nm.

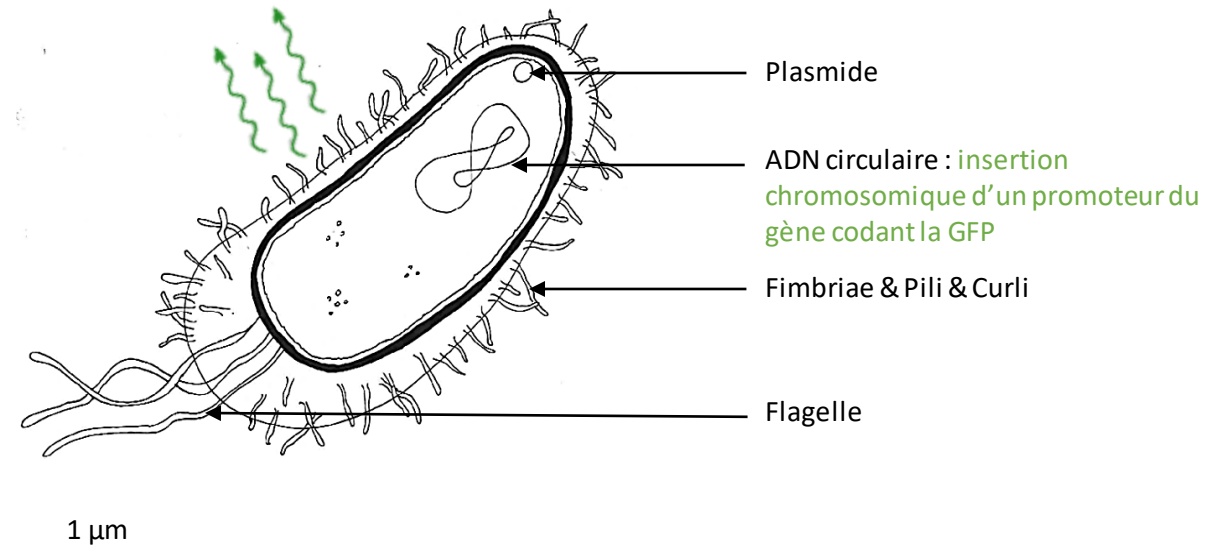


Figure 15 : Représentation d'*E. coli* SCC1.

***Escherichia coli* PHL 1270.** La souche *E. coli* K-12 PHL 1270 (Laboratoire de Génétique Moléculaire des Microorganismes et des Interactions Cellulaires, INSA Lyon, France) a également été utilisée dans cette étude. Cette souche a été génétiquement modifiée pour auto-fluorescer quand elle exprime des curli. Les curli sont des fibres extracellulaires sécrétées par les bactéries. Ces structures sont connues dans la littérature comme étant impliquées dans l'adhésion, l'agrégation cellulaire et la formation de biofilm (Van Houdt et Michiels 2005).

### B. Souche fongique

***Candida albicans* 1902m27-011801.** Le choix s'est orienté vers une levure largement répandue dans l'environnement clinique, *C. albicans* (Kim et Sudbery 2011 ; Sardi et al. 2013 ; Nobile et Johnson 2015). La souche utilisée dans ces travaux est issue d'un patient (Hôpital Civil de Strasbourg, France) présentant une infection d'un dispositif médical avec formation d'un biofilm, et donc potentiellement plus encline à former des biofilms lors de cultures *in vitro*.

Le genre *Candida* fait partie du phylum des Ascomycètes de la classe des Saccharomycètes. Ce genre comprend environ 200 espèces, dont moins d'une vingtaine sont fréquemment impliquées dans des processus pathologiques (Ripert 2013). *C. albicans* en fait partie. Il s'agit d'une levure pathogène opportuniste très polyvalente, qui provoque des infections fongiques telles que la candidose, essentiellement au niveau des muqueuses, des infections superficielles cutanées, des pneumonies, etc... et peut être à l'origine d'infection systémique. *C. albicans* a la particularité de se présenter sous plusieurs morphologies : des formes unicellulaires arrondies, et des formes plus filamenteuses plus ou moins cloisonnées et ramifiée (hyphes et pseudohyphes) (Figures 16). Cette capacité de *C. albicans* à changer de morphologie participe à la virulence du pathogène (Thompson, Carlisle, et Kadosh 2011 ; Sudbery, Gow, et Berman 2004).

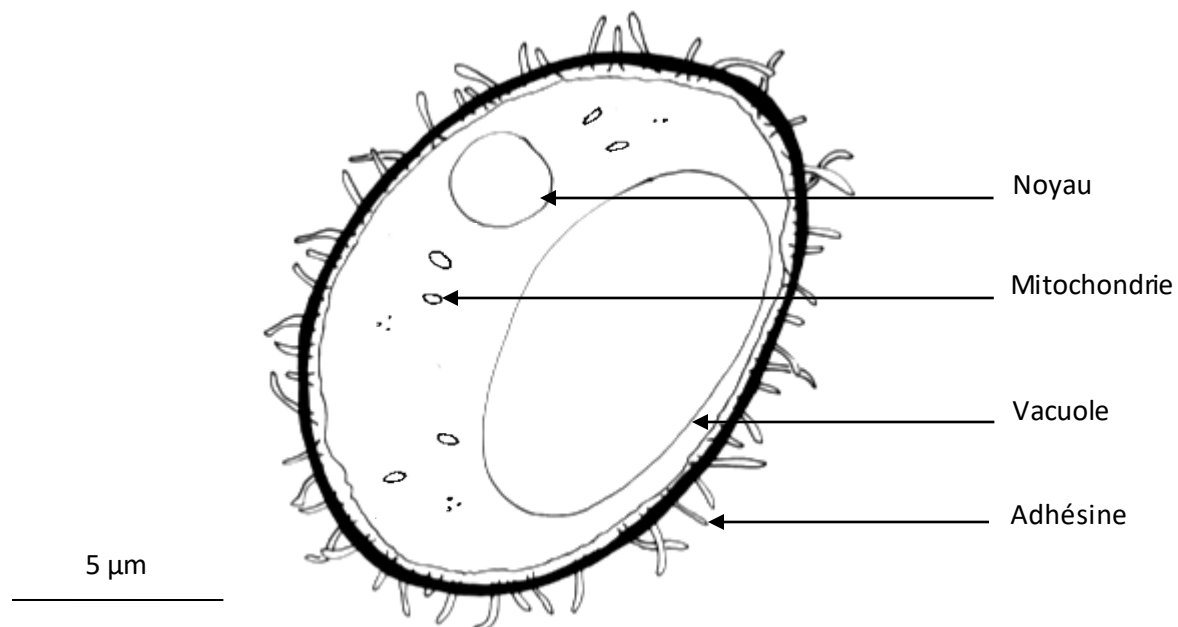


Figure 16 : Représentation de *C. albicans* sous sa forme unicellulaire arrondie.

### 3.2. Culture microbiologique sur les matériaux

Les bactéries *E. coli* et les levures *C. albicans* provenant d'un stock congelé à  $-80^{\circ}\text{C}$  ont été cultivées à  $30^{\circ}\text{C}$  dans du milieu Lysogeny Broth (LB) (Difco<sup>TM</sup>, US), et à  $37^{\circ}\text{C}$  dans du milieu Sabouraud (SAB), respectivement, pour une première culture d'une nuit. Ensuite, 3 mL de la première culture ont été ajoutés à 27 mL de LB frais ou de SAB frais, respectivement. Après 3 h de culture à  $30^{\circ}\text{C}$  ou  $37^{\circ}\text{C}$ , respectivement, cette suspension a été centrifugée à 3000 rpm pendant 20 min, et le culot microbien a été re-suspendu dans du milieu M63G. Le milieu M63G est composé de milieu M63+ (lui-même composé de phosphate de monopotassium  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,



de sulfate d'ammonium  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , de sulfate ferreux  $\text{FeSO}_4$ , de sulfate de magnésium  $\text{MgSO}_4$ , ainsi que de thiamine, dont le pH a été ajusté à 6,8 par de l'hydroxyde de potassium) auquel on ajoute du glucose.

La densité optique de la suspension (c'est-à-dire l'absorbance à 600 nm) a été ajustée à 0,01, correspondant à environ  $5 \times 10^6$  bactéries/mL et à  $8 \times 10^4$  levures/mL. 1,5 mL de cette solution microbienne a ensuite été mise en contact avec les matériaux, puis a été incubée à 30°C ou 37°C, respectivement, pendant 3 h, sans flux ni renouvellement de milieu.

Sauf pour les expérimentations avec les boîtes de culture Ibidi®, les échantillons ont été disposés dans des contenants spécialement conçus pour cette étude. En effet, la manutention des hydrogels les plus mous, de la même façon que celle des PDMS les plus mous, était très délicate car le matériau était très souple et collant. Pour les expérimentations microbiologiques, les matériaux ont été découpés en disques de diamètres 8 mm à l'aide d'un cutter circulaire. Ces disques ont ensuite été placés sur une lamelle de verre de diamètre 12 mm avec un point de colle biocompatible, puis placés dans des portoirs métalliques sur mesure. Ces portoirs métalliques, stérilisables et réutilisables, ont été conçus au laboratoire pour cette thèse et produits par l'entreprise Ets Laurent LAGACHE. Il s'agit de portoirs composés d'une pièce femelle en acier inoxydable au fond de laquelle une lamelle de verre diamètre 12 mm (sur laquelle l'échantillon du biomatériau est collé à l'aide d'une colle à aquarium) est déposée. Un joint torique est ensuite déposé sur la lamelle pour éviter les fuites, puis la partie mâle est enfin vissée. La solution bactérienne ou fongique est finalement ajoutée dans le puits formé par l'assemblage (Figure 30).

### 3.3. Etudes de l'adhésion, de la formation de biofilm et de la mobilité

Lors de ces travaux de thèse, à la fois des images 2D et 3D ont été générées et analysées : les images 2D ont permis d'effectuer des dénombrements et des analyses des trajectoires et des vitesses des bactéries adhérentes sur des temps courts (après 3 h d'inoculation sur les matériaux), tandis que les images 3D ont permis d'étudier la formation et l'organisation structurelle des biofilms obtenus après des temps plus longs (72 h).

#### A. Observations des microorganismes par microscope confocal

L'observation des microorganismes à court et long termes (3 h et 72 h) a été réalisée à l'aide d'un microscope confocal à balayage laser inversé (CSLM) (LSM710, Zeiss, Allemagne) équipé d'un objectif x50 (Objectif LD EC Epiplan-Neofluar 50x/0,55 DIC M27 ; distance focale 9,1 mm). L'utilisation de cet objectif a permis, d'une part grâce à son fort grossissement, d'observer de façon adéquate les microorganismes, et d'autre part grâce à sa grande distance focale d'observer les bactéries adhérees et les biofilms formés sur des surfaces relativement épaisses.

Brièvement, le microscope confocal à balayage laser est constitué de deux diaphragmes (le premier focalise le faisceau, tandis que le second ne laisse passer que la lumière venant du point visé de l'échantillon). Les fluorochromes présents au point de focalisation du faisceau émettent une lumière, ensuite filtrée par le miroir dichroïque et un filtre. L'échantillon est placé sur un montage optique mobile dans les trois dimensions (x, y, z) ; cela permet de balayer la surface de l'échantillon avec le faisceau pour en former l'image de fluorescence en 2D ou 3D (Figure 17).

Les microorganismes vivants ont été directement examinés au microscope confocal sans étape de fixation, à l'exception des expérimentations avec des bactéries rendues inertes (expérimentations ayant pour but d'analyser les mobilités des bactéries, et consistant à fixer les cellules à l'aide de paraformaldéhyde (PFA)). Pour la souche bactérienne *E. coli* SCC1, compte tenu de sa capacité à auto-fluorescer quand elle est métaboliquement active, l'ajout de marqueur n'a pas été nécessaire. En revanche, pour la souche *E. coli* PHL 1270 ainsi que pour la souche fongique *C. albicans*, un marquage a été requis pour visualiser les bactéries ou les levures, sans distinction des cellules mortes ou vivantes. Le colorant Syto9<sup>®</sup> a été choisi pour ces travaux ; il s'agit d'un colorant chromosomique fluorescent verte qui pénètre les parois et/ou les membranes cellulaires des procaryotes. Ce colorant a une affinité élevée pour l'ADN et présente une fluorescence avec un maximum d'excitation à 483 nm et un maximum d'émission de fluorescence à 503 nm.

Un laser de 488 nm a été utilisé pour exciter la GFP produite par *E. coli* SCC1 pour permettre la détection des cellules bactériennes. La fluorescence émise a ainsi été collectée de 493 nm à 578 nm pour les analyses d'adhésion, de rétention et de mobilité, ou de 493 nm à 544 nm l'analyse de biofilm. Les mêmes paramètres ont été utilisés pour analyser les cellules de *C.*

*albicans* marquées au Syto9® Le laser à 561 nm a été utilisé pour l'excitation de la Concanavoline A (ConA) (marqueur utilisé pour visualiser la MEC des biofilms bactériens) ; la fluorescence émise par la ConA a été collectée entre 582 nm et 650 nm.

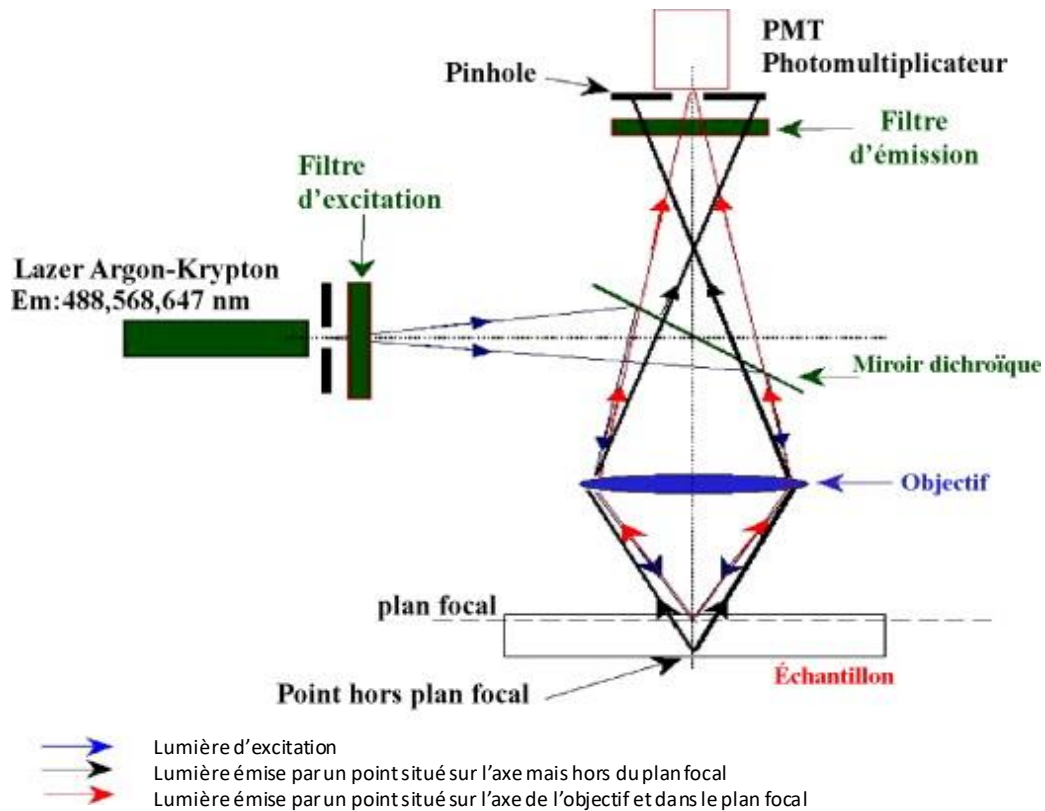


Figure 17 : Représentation du fonctionnement d'un microscope confocal. Image extraite de (Ascencio et al. 2008).

### B. Etude à temps court : adhésion et mobilité

**Etude de l'adhésion et de la rétention.** Dans ces travaux, l'adhésion ainsi que la mobilité des microorganismes adhérents sur les surfaces ont été analysées à des temps courts (3 h).

Premièrement, un dénombrement des microorganismes adhérents après 3 h d'inoculation avec les substrats hydrogels HA et PDMS a été réalisé dans deux conditions différentes : en condition immergée sans passage à l'air des échantillons (analyse de l'adhésion microbienne) et en condition immergée avec passage à l'air des échantillons, c'est-à-dire après avoir retiré l'intégralité du surnageant, en créant une interface surface-air, puis avoir remis du milieu pour les observations au microscope confocal (analyse de la rétention microbienne). Un schéma présentant les étapes de la préparation des échantillons jusqu'aux étapes de rinçages précédant la visualisation des échantillons est exposé ci-dessous (Figure 18). Brièvement, une culture microbienne à DO 0,01 est préparée et inoculée sur les échantillons, qui ont été préalablement découpés et fixés sur une lamelle de verre déposée dans un portoir métallique.

Les étapes d'inoculation des matériaux d'hydrogel HA (Figure 18-A) et PDMS (Figure 18-B) sont identiques. Une attention particulière a été apportée aux étapes de rinçage. En effet, pour l'analyse de l'adhésion et de la mobilité, les microorganismes planctoniques ont été éliminés par une procédure de lavage basée sur des dilutions successives afin d'éviter tout démontage de la surface de l'échantillon et le risque associé de « chasser » les microorganismes adhérents du fait de la force appliquée par le front de démontage (Figure 18-D). Ainsi, les matériaux ont été rincés par étapes de dilutions successives (Figure 18-C) dans les expérimentations en condition immergée. Concrètement, cela consistait à effectuer trois fois : 1) retirer un tiers du volume présent, puis 2) rajouter le même volume de milieu M63 frais. Cela permettait d'éliminer les microorganismes planctoniques pour obtenir une DO en dessous en dessous du seuil de détection du spectrophotomètre utilisé dans ces études. *In fine*, cela permet d'éliminer les microorganismes planctoniques pour éviter qu'ils viennent s'adhérer sur les surfaces pendant la période d'observation (les microorganismes observés sont donc ceux qui ont été en contact avec le matériau et qui potentiellement ont senti et mis en place des mécanismes cellulaires pour répondre aux propriétés de la surface), mais également pour limiter le bruit de fond lors des acquisitions au microscope confocal. Du milieu M63 restrictif (i.e. M63G sans glucose) a été utilisé dans ces étapes de rinçage pour supprimer le carbone du milieu et ainsi stopper la croissance des microorganismes.

En parallèle, pour l'analyse de la rétention des microorganismes, les microorganismes planctoniques ont été éliminés par la suppression de la totalité du surnageant, réalisant ainsi un passage à l'air des échantillons. Plus précisément, les échantillons ont été rincés de la façon suivante : 1) retirer la totalité du surnageant, puis 2) rajouter le même volume de milieu M63 frais ; ces étapes ont été répétées trois fois. Cela avait pour but de comparer l'adhésion (pas de création d'une interface surface-air) et la rétention (création d'une interface surface-air) microbienne, et de pouvoir comparer nos résultats avec ceux présentés dans la littérature, qui sont très majoritairement réalisés en condition émergée, après la création d'une interface surface-air. Cela a également un intérêt plus fondamental, notamment pour obtenir des résultats permettant de comprendre le rôle joué par l'élasticité et l'hydratation de surface dans des conditions d'application médicale, où par exemple les DM implantés colonisés sont en condition immergée.

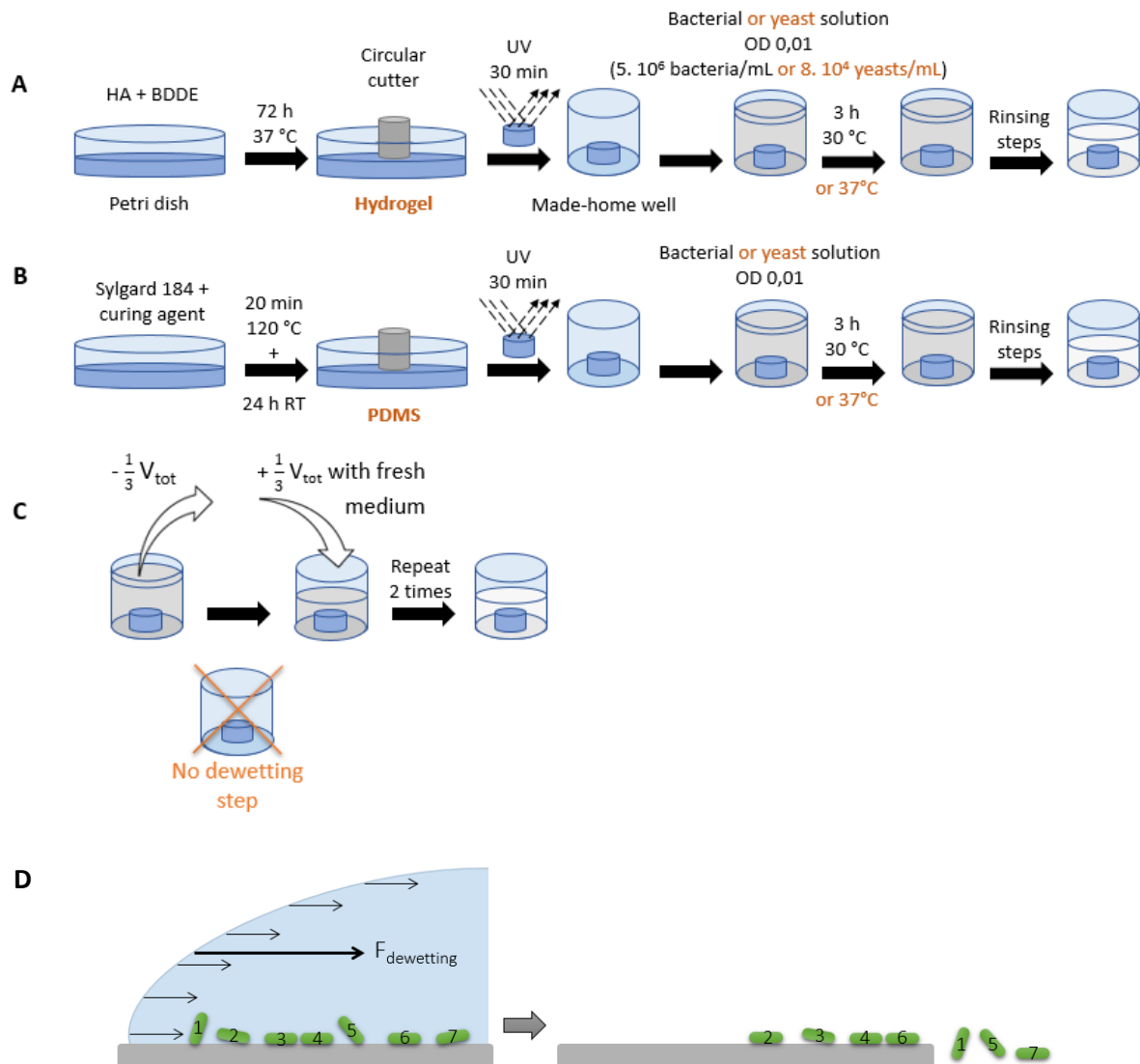


Figure 18 : Etapes de production des matériaux d'hydrogels HA (A) et de PDMS (B) jusqu'aux étapes de rinçage. Lors des manipulations en condition immergée (analyse de l'adhésion microbienne), des dilutions successives sans passage à l'air des échantillons ont été réalisées (C) pour éviter de chasser des bactéries de façon non contrôlée. Lors des manipulations en condition immergée mais avec passage à l'air de l'échantillon (analyse de la rétention microbienne), une interface surface-air a été créée en supprimant complètement le milieu de culture, induisant la formation d'un front de démoillage, qui applique sur la surface une force nommée  $F_{dewetting}$ , et pouvant potentiellement chasser les bactéries « faiblement » adhérentes (c'est-à-dire les bactéries 1, 5 et 7 dans cette représentation) (D).

**Etude de la mobilité.** Pour l'étude de la mobilité, des films d'une minute avec une image toutes les 3 ou 5 secondes (en fonction de l'expérience) ont été acquis au microscope confocal. Le suivi cellulaire dans ces vidéos d'une minute a été effectué avec le logiciel NIS-Elements Advanced Research Imaging® (Nikon Group™) en utilisant le module de suivi d'objet automatisé après seuil manuel. Les données disponibles sont les positions (x, y) des bactéries à des instants successifs espacés de  $\Delta t = 3$  ou 5 secondes selon les expérimentations.

Les expérimentations ont été menées sur des microorganismes vivants, ainsi que sur des organismes rendus inertes par l'ajout de PFA. Brièvement, les bactéries provenant d'un stock

congelé à  $-80^{\circ}\text{C}$  ont été cultivées pendant une nuit à  $30^{\circ}\text{C}$  sur une boîte d'agar LB. Ensuite, une colonie a été mise en suspension dans du milieu LB et cultivée à  $30^{\circ}\text{C}$  pour une culture d'une nuit. 3 mL de la première culture ont ensuite été ajoutés à 27 mL de LB frais. Après 3 h de culture à  $30^{\circ}\text{C}$ , cette suspension a été centrifugée à 3000 rpm pendant 20 min, et le culot bactérien a été remis en suspension dans une solution de paraformaldéhyde à 3,7% (p/v) dans du PBS. La suspension a été homogénéisée par vortex pendant 1 min et agitée pendant 1 h à température ambiante. Ces étapes d'agitation permettaient de décoller l'intégralité du culot bactérien et favoriser le contact entre les microorganismes et le PFA ; après ce temps, les bactéries étaient rendues inertes. Pour supprimer le fixateur du milieu, la suspension a ensuite été centrifugée à 3000 rpm pendant 20 min et remise en suspension dans du M63G. 100  $\mu\text{L}$  de cette suspension ont été étalés sur une boîte de Pétri de gélose LB et incubés à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h pour vérifier la mort des cellules bactériennes. Des échantillons de matériau, préalablement placés sur une lamelle de verre avec un point de colle biocompatible et placés dans un porte-échantillon fait maison de 12 mm de diamètre, ont été inoculés avec 1,5 ml de cette suspension à une densité optique de 0,01. Les échantillons ont ensuite été incubés à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 3 h. Avant de les visualiser, les échantillons ont été rincés comme cela a été décrit pour les protocoles sans PFA.

**Simulations des mobilités des bactéries.** Les positions (x, y) des bactéries à des instants successifs espacés de  $\Delta t = 3$  ou 5 s, selon les expérimentations, ont permis de modéliser les trajectoires des bactéries. Si des paramètres tels que la distance totale parcourue par une bactérie ou la distance départ-arrivée sont recherchés, il est indispensable de former des échantillons homogènes, c'est-à-dire rassemblant des trajectoires d'égale durée.

Via les positions (x, y) des bactéries à des instants successifs, différentes grandeurs peuvent être mesurées :

- $d_{\text{tot}}$  : distance totale parcourue ;
- $d_{\text{max}}$  : distance entre les deux points les plus éloignés d'une trajectoire ;
- $d_{\text{net}}$  : distance entre le point de départ et le point d'arrivée (Figure 21) ;
- $r_c$  : rayon du puits dans lequel la bactérie se retrouve « piégée » dans des conditions de mouvement brownien lié.

Le paramètre  $d_{tot}$  ne rend pas compte du possible confinement de la bactérie. En effet, la distance totale parcourue par la bactérie peut être grande soit parce qu'elle a « virevolté » autour de sa position initiale, soit parce qu'elle a réalisé une longue trajectoire s'éloignant de sa position initiale. Dans un souci de mieux appréhender ce confinement, nous nous sommes donc orienté vers l'analyse de la grandeur  $d_{net}$ .

Ainsi, nous avons utilisé une caractéristique du mouvement, à savoir la moyenne quadratique des positions  $\langle d_{net} \rangle : \sqrt{\langle d_{net}^2 \rangle}$ . En posant  $x(t)$  la distance de la particule à sa position de départ à l'instant  $t$ , nous avons alors :

$$\langle d_{net}^2 \rangle = \frac{1}{t} \int_0^t x^2(t) dt$$

Ce qui démontre que le déplacement quadratique moyen est proportionnel au temps :

$$\langle d_{net}^2 \rangle = 2dDt$$

où  $d$  est la dimension du mouvement (linéaire, plan, spatial),  $D$  le coefficient de diffusion, et  $t$  le temps écoulé.

Dans cette étude, les bactéries sont adhérentes sur une surface et leur mobilité est observée dans un environnement bidimensionnel. Ainsi,  $d = 2$  et on obtient ainsi :

$$\langle d_{net}^2 \rangle = 4Dt$$

Pour prendre en compte l'absence éventuelle de liberté de mouvement des bactéries et leur attachement à une localisation particulière, nous avons considéré que les bactéries étaient retenues dans des puits. Nous avons donc utilisé des simulations se basant sur l'hypothèse du mouvement brownien lié. Nous avons donc pris en compte dans ces modélisations deux forces supplémentaires : la première concerne l'agitation thermique (plus la température du système est élevée, plus l'agitation thermique est grande donc plus les petites molécules donnent de l'énergie à la particule dans le puits, et plus la bactérie peut se déplacer plus loin pour une énergie donnée) ; la seconde concerne le ressort de Hooke (visuellement, la bactérie est rattachée au puits par un ressort avec une constance de raideur définie, et la force de rappel est proportionnelle à l'élongation du ressort ; les puits représentés sont des puits harmoniques, c'est-à-dire proportionnels au carré du rayon du puits).

Nous avons défini  $U$  l'énergie de la particule et  $r$  le rayon du puits. La force de rappel du ressort de Hooke  $F$  peut alors s'exprimer selon la formule :

$$F = -\frac{\partial U}{\partial r}$$

D'où la force de rappel du ressort de Hooke  $F$  qui est proportionnelle au rayon  $r$  du puits :

$$F \sim \frac{r}{r_c^2} \sim kr$$

avec  $k$  une constante et  $r_c$  le rayon de confinement de la bactérie.

Ainsi, pour une bactérie dans un puits, on montre que plus la bactérie s'éloigne du centre du puits plus cela lui demande de l'énergie. En nous basant sur environ 10 000 simulations des trajectoires de bactéries, nous avons montré que la densité de probabilité de  $d_{net}^2$  était proportionnelle à une exponentielle décroissante, comme pour des mouvements browniens libres. Ces simulations nous ont également permis de déterminer le paramètre de l'exponentielle, dépendant du temps  $t$ , du coefficient de diffusion  $D$  de la bactérie, et du rayon de confinement  $r_c$  de la bactérie :

$$\langle d_{net}^2 \rangle = 2r_c^2 \left( 1 - e^{-\frac{2Dt}{r_c^2}} \right)$$

*Box : lien entre fonction de distribution, de répartition et de complémentarité*

Soient  $f(x)$  la fonction de distribution,  $F$  la fonction de répartition et  $\phi$  la fonction de complémentarité.

$$f(x) \rightarrow F = \int_0^x f(x) dx$$

$$\phi = 1 - F$$

Si  $f$  est proportionnelle à une fonction exponentielle, alors  $\phi$  est également proportionnelle à une fonction exponentielle (et  $F \sim 1 - e$ ).

Pour mettre en évidence qu'il y avait plus d'un groupe de bactéries défini avec un couple  $(r_c, D)$  spécifique, c'est-à-dire qu'il existait des sous-populations de bactéries avec des caractéristiques de mouvement et de diffusion distinctes composant l'ensemble de la population bactérienne adhéree, nous avons analysé les courbes  $\phi$ . En effet, en supposant que les bactéries se comportent comme étant dans un même puits, c'est-à-dire avec un rayon de confinement et un coefficient de diffusion identiques, alors la fonction de distribution  $f$



devrait suivre une loi exponentielle, de même que pour la fonction de complémentarité  $\phi$ . Ainsi,  $\log\phi$  devrait être une droite en fonction de  $d_{net}^2$ . Or, lors de nos simulations, nous avons montré que les courbes de  $\log\phi$  n'étaient pas des droites sur les différents substrats, et que donc les bactéries analysées ne répondaient pas toutes au même couple  $(r_c, D)$ .

Ainsi, une sous-population bactérienne est caractérisée par un couple  $(r_c, D)$ , et pour  $m$  sous-populations :

$$\phi = \sum_{i=1}^m w_i e^{-\frac{d_{net}^2}{\langle d_{net}^2 \rangle_i}}$$

avec  $w$  le poids relatif de chaque sous-population ( $w \in [0; 1]$ ).

En outre, pour donner des informations sur le confinement des bactéries, nous avons introduit la variable  $\rho$ , représentant l'index de confinement, et s'exprimant :

$$(r_c, D, t) \rightarrow \rho = \frac{\langle d_{net}^2 \rangle}{2r_c^2} = 1 - e^{-\frac{2Dt}{r_c^2}}$$

Typiquement, avec cette dernière expression, quand le temps augmente, l'exponentielle tend à s'annuler et  **$\rho$  tend vers 1 : la particule est dite confinée**. A contrario, quand le temps diminue, on retrouve avec un développement limité que l'exponentielle tend vers 1, et donc que  **$\rho$  tend vers 0 : la particule est dite libre**. Ainsi, à un temps donné, différentes sous-populations ont pu être mis en évidence dans nos travaux, et un tri en fonction de  $\rho$  a été réalisé pour distinguer les bactéries présentant un mouvement brownien libre à celles présentant un mouvement brownien lié. Les premières simulations ont été réalisées avec 50 sous-populations, et ont montré que plus de 99% des trajectoires expérimentales étaient regroupées, au maximum, dans 10 sous-populations. Cela justifie la réduction à 10 sous-populations pour la suite des travaux.

### C. Etude temps long : formation de biofilm

Pour déterminer si les tendances de colonisation à court terme (3 h) se maintenaient à plus long terme (72 h), des cultures bactériennes ont été réalisées sur les différents matériaux, et les biofilms ont été observés en microscopie confocale.

L'étude des biofilms a été réalisé uniquement pour les bactérie *E. coli* SCC1. Les échantillons ont été préparés comme décrit dans le paragraphe 3.2.B. Après 3 h d'inoculation, trois

rinçages par dilutions successives ont été réalisés, pour enlever les bactéries planctoniques et s'assurer que la formation du biofilm se fera à partir de microorganismes qui étaient initialement adhérents à la surface.

Dans ces travaux, nous avons étudié deux parties spécifiques du biofilm : la biomasse bactérienne (métaboliquement active et produisant de la GFP) a été observée via l'auto-fluorescence d'*E. coli* SCC1, tandis que le marqueur ConA (Invitrogen™) a été utilisé pour marquer la MEC des biofilms (Figure 19). La ConA se lie spécifiquement aux résidus  $\alpha$ -mannopyranose et  $\alpha$ -glucopyranose (Köhn et al. 2004). La poudre de ConA a été diluée dans une solution de bicarbonate de sodium 0,1 M, qui a été ajoutée dans le dernier milieu de lavage dans chaque échantillon. La concentration finale était de 125  $\mu$ g/L. Après 30 min à 30°C à l'obscurité, au moins 5 images 3D (Z-stacks) ont été prises *in situ* dans le dernier milieu de lavage. Les images obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel Comstat2®, pour notamment obtenir certaines caractéristiques, comme la biomasse, la rugosité et l'épaisseur du biofilm.

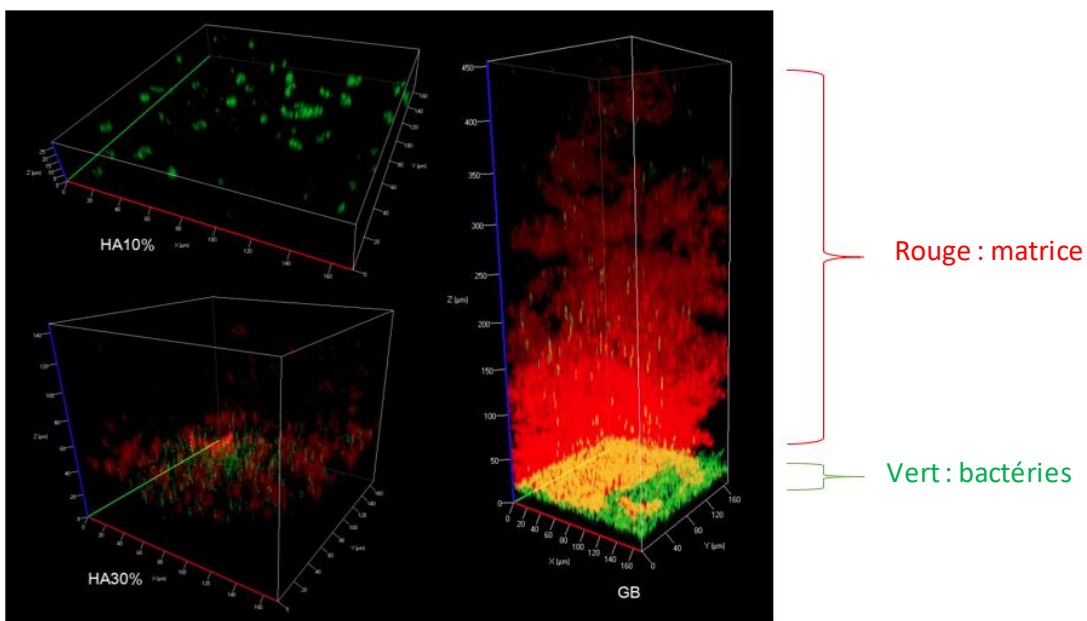


Figure 19 : Exemples d'acquisitions 3D de biofilms d'*E. coli* sur verre et sur hydrogel HA.

#### 4. Etudes du mécanisme d'adhésion bactérienne et fongique

##### 4.1. Etude des protéomes de cellules adhérentes d'*E. coli* et de *C. albicans*

Pour comprendre les mécanismes biologiques sous-jacents en relation avec les propriétés mécaniques du substrat, nous avons étudié les protéomes d'*E. coli* SCC1 et de *C. albicans* exposés à différentes propriétés mécaniques de substrat. Pour cela, une approche

protéomique comparative a été adoptée. Nous décrivons ci-dessous les quatre étapes principales de l'analyse protéomique qui a été réalisée, à savoir l'extraction protéique, la digestion enzymatique, la spectrométrie de masse et la quantification protéique. Ces expérimentations ont été réalisées en collaboration avec le laboratoire PBS (Polymères Biopolymères Surfaces, Rouen, France).

- **Extraction protéique.** Des analyses protéomiques ont été effectuées sur des cellules adhérentes sur du PDMS 1:80 et 1:5 et des hydrogels BDDE/HA à 10 % et 30 %. Les substrats PDMS et HA ont été inoculés et rincés comme décrit précédemment. Les cellules adhérentes ont été délicatement détachées avec un grattoir à cellules. Ces cellules grattées ont été retirées du grattoir avec des rinçages avec du M63 frais. La solution contenant ces cellules a été transférée dans des tubes Eppendorf de 1,5 ml, qui ont été centrifugés à 10 000 tr/min pendant 30 min. Le surnageant a ensuite été retiré et le culot a été stocké à -20°C jusqu'à l'analyse. Les protéines ont été extraites par 2 cycles de congélation et sonication dans un tampon de lyse (7 M d'urée, 2 M de thiourée, 4 % de CHAPS (ou 3-[(3-cholamidopropyl)diméthylammonio]-1-propanesulfonate), 65 mM de DTT (ou dithiothréitol), 25 mM de Tris/HCl). Les concentrations de protéines ont été déterminées avec le test de Bradford.
- **Digestion enzymatique.** 20 µg de protéines ont été mélangés avec du tampon de charge SDS (63 mM Tris-HCl, pH 6,8, 10 mM DTT, 2 % SDS, 0,02 % de bleu de bromophénol, 10 % de glycérol), puis chargés sur un gel d'empilement SDS-PAGE (7 %). Une courte électrophorèse a été réalisée (10 mA, 45 min et 20 mA, 2h) afin de concentrer les protéines. Après migration, les gels ont été colorés au bleu de Coomassie et décolorés (50 % d'éthanol, 10 % d'acide acétique, 40 % d'eau déminéralisée). La bande de protéine révélée de chaque fraction a été excisée, lavée à l'eau, puis immergée dans un milieu réducteur (5 mM DTT). Les cystéines ont été alkylées de manière irréversible avec 25 mM d'iodoacétamide dans l'obscurité. Après les étapes de lavage dans l'eau, les bandes de gel ont été soumises à une digestion des protéines avec de la trypsine (1 µg par bande), pendant une nuit à 37 °C, dans un tampon de bicarbonate d'ammonium (10 mM et pH 8). Les peptides ont été extraits avec des mélanges H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN/TFA (49,5/49,5/1) puis séchés. Pour chacune des conditions de croissance, trois répliques biologiques ont été réalisées et deux répliques

techniques ont été réalisés pour chacun d'eux (au total 6 échantillons par conditions ont été analysés).

- **Spectrométrie de masse en tandem.** Les peptides ont ensuite été analysés par spectrométrie de masse. Toutes les expériences ont été réalisées sur un LTQ-Orbitrap Elite (Thermo Scientific) couplé à un système Easy nLC II (Thermo Scientific). Un microlitre d'échantillon (1 µg) a été injecté sur une colonne d'enrichissement (C18 PepMap100, Thermo Scientific). La séparation a été réalisée avec une aiguille de colonne analytique (NTCC-360/diamètre interne : 100 µm ; granulométrie : 5 µm ; longueur : 153 mm, NikkyoTechnos, Tokyo, Japon). La phase mobile était constituée de H<sub>2</sub>O/0,1 % d'acide formique (FA) (tampon A) et de CH<sub>3</sub>CN/FA 0,1 % (tampon B). Les peptides tryptiques ont été élués à un débit de 300 nL/min en utilisant un gradient linéaire en trois étapes : de 2 à 40 % de B en 75 min, de 40 à 80 % de B en 4 min et 11 min à 80 % de B. Le spectromètre a fonctionné en mode d'ionisation positive avec une tension capillaire et une température de source fixées respectivement à 1,5 kV et 275°C. Les échantillons ont été analysés en utilisant la méthode CID (dissociation induite par collision). Le premier balayage (spectres MS) a été enregistré dans l'analyseur Orbitrap (Rs = 60 000) avec la plage de masse m/z 400-1800. Ensuite, les 20 ions les plus intenses ont été sélectionnés pour des expériences de spectrométrie de masse en tandem (MS<sup>2</sup>). Les espèces à charge unique ont été exclues des expériences MS<sup>2</sup>. L'exclusion dynamique des ions précurseurs déjà fragmentés a été appliquée pendant 30 s, avec une répétition pendant 30 s et une largeur de masse d'exclusion de ±10 ppm. Une fragmentation s'est produite dans l'analyseur à piège à ions linéaire avec une énergie de collision de 35 eV. Toutes les mesures dans l'analyseur Orbitrap ont été effectuées avec un recalibrage interne à la volée (masse de verrouillage).
- **Quantification protéique.** Pour la quantification des protéines, une expérience sans marqueur a été réalisée comme décrit précédemment par Obry et al. (Obry et al. 2015). Brièvement, après analyse MS, les données brutes ont été importées dans le logiciel Progenesis LC-MS (Nonlinear Dynamics, version 4.0.4441.29989, Newcastle, Royaume-Uni). A titre de comparaison, un échantillon a été défini comme référence et les temps de rétention de tous les autres échantillons de l'expérience ont été alignés. Après alignement et normalisation, une analyse statistique a été effectuée pour les calculs d'analyse de variance à un facteur (ANOVA). Pour la quantification, les

caractéristiques peptidiques présentant une valeur p et une valeur q inférieures à 0,05 et une puissance supérieure à 0,8 ont été retenues. Les spectres MS/MS de peptides sélectionnés ont été exportés pour l'identification de peptides avec Mascot (Matrix Science, version 2.2.04) par rapport à la base de données restreinte à *E. coli* K12 substr. MG1655 de NCBI. Les recherches dans la base de données ont été effectuées avec les paramètres suivants : 1 site de clivage de la trypsine manqué autorisé ; modifications variables : carbamidométhylation de la cystéine et oxydation de la méthionine. Les tolérances de masse pour les ions précurseurs et fragments ont été fixées à 5 ppm et 0,35 Da, respectivement. Les taux de fausses découvertes (FDR) ont été calculés en utilisant une approche leurre-fusion dans Mascot (version 2.2.04). Les correspondances de spectre de peptides identifiées avec une valeur de  $-10\log P$  de 20 ou plus ont été conservées, à un seuil FDR de 5%. Les résultats de recherche de mascotte ont été importés dans Progenesis. Pour chaque condition, l'abondance cumulative totale de la protéine a été calculée en additionnant les abondances de peptides. Les protéines identifiées avec moins de 2 peptides ont été rejetées. Seules les protéines qui variaient d'un facteur 2 dans leurs abondances moyennes normalisées entre les conditions de croissance ont été retenues.

Enfin, une analyse manuelle des protéines révélées lors de ces analyses ainsi que leur analyse bioinformatique ont été réalisées. Notamment, les interactions protéine-protéine ont été prédites par STRING 11.0 (confiance de 0,4), pour obtenir une carte des associations directes (physiques) et indirectes (fonctionnelles) à partir de la base de données (<http://string-db.org/>).

#### 4.2. Focus sur une protéine d'accroche d'*E. coli* : la protéine curli

De façon intéressante, lors des analyses protéomiques, de nombreuses protéines ont été détectées, mais pas celles composant les curli, fibres extracellulaires sécrétées par *E. coli*. Il est pourtant connu dans la littérature que ces fibres sont impliquées dans l'adhésion, l'agrégation cellulaire et la formation de biofilm. Nous avons donc souhaité adopter une approche complémentaire pour étudier l'influence des propriétés mécaniques sur la production de curli.

La souche *E. coli* PHL 1270 a été utilisée pour ces travaux. Les cultures ont été réalisées de la même façon que pour *E. coli* SCC1. Etant donné la qualité des images obtenues au confocal, la quantification de la fluorescence n'a pas pu être dégagée. En revanche, un dénombrement manuel des bactéries fluorescentes a pu être réalisé, et une fraction de bactéries fluorescentes a ainsi pu être calculée.



Chapitre 3. Article :  
“Limited diffusion and delayed biofilm formation  
by *Escherichia coli* on soft hydrated hyaluronic acid  
substrates”

1. Introduction.....	91
2. Article.....	93
3. Travaux complémentaires .....	164
3.1. Etude de l’adhésion des bactéries .....	164
3.1.1. Gammes de PDMS et d’hydrogels HA complètes .....	164
3.1.2. Modèle des boîtes Ibidi® avec un coating de PDMS .....	165
3.2. Analyse de la mobilité bactérienne .....	168
3.2.1. Mobilité bactérienne sur des substrats HA et PDMS.....	169
3.2.2. Etude des bactéries rendues inertes .....	171
3.3. Etude de l’expression des curli – Souche <i>E. coli</i> PHL 1270.....	173



## Chapitre 4. Comportements des levures adhérees à des substrats aux propriétés mécaniques variables

1. Introduction.....	181
2. Etude de l'influence des propriétés mécaniques du substrat sur l'adhésion et la mobilité de <i>C. albicans</i> .....	182
2.1. Adhésion de <i>C. albicans</i> sur des substrats PDMS de boîtes de culture Ibidi® .....	182
2.2. Adhésion de <i>C. albicans</i> sur des PDMS avec une finition manuelle et des hydrogels HA184	
2.3. Mobilité de <i>C. albicans</i> sur des PDMS avec une finition manuelle et des hydrogels HA	186
2.4. Le devenir des cellules adhérees et l'analyse de leur protéome .....	187
3. Conclusion .....	187



## 1. Introduction

Aujourd'hui, les infections fongiques systémiques résistantes aux médicaments, liées à la formation de biofilm, apparaissent comme un problème clinique majeur (Arendrup et Patterson 2017 ; Perlin, Rautemaa-Richardson, et Alastruey-Izquierdo 2017). Contrairement à la vaste littérature décrivant les biofilms bactériens, peu d'attention a été accordée aux biofilms fongiques rencontrés dans le domaine médical. Il est toutefois connu que les espèces de *Candida* sont capables de former des biofilms, où les cellules sont retrouvées sous plusieurs états morphologiques et sont, comme pour les biofilms bactériens, beaucoup moins sensibles aux médicaments antifongiques (Desai 2014).

Pour empêcher l'adhésion de microorganismes sur les biomatériaux tout en limitant l'émergence de résistances aux antibiotiques, les modifications de surface sans utilisation d'antibiotiques semblent être une bonne stratégie. Comme nous l'avons vu avec les bactéries dans le Chapitre 1, de nombreuses études ont montré que la modification de surface des matériaux peut avoir un impact significatif sur l'adhésion microbienne ; cette littérature est beaucoup plus restreinte pour l'adhésion fongique.

Bien que les mécanismes exacts d'adhésion de *C. albicans* faisant intervenir des adhésines (Sundstrom 1999 ; de Groot et al. 2013) à une surface ne soient pas encore connus, plusieurs facteurs affectant cette adhésion ont été décrits. Parmi eux figurent la topographie de la surface, l'hydrophilie/hydrophobie de surface (Verran et Maryan 1997; Muttagi et Subramanya 2017; Alalwan et al. 2018; Lagree et al. 2018), et de façon beaucoup plus récente, l'élasticité de surface. En effet, Szekalska et al. (Szekalska et al. 2019) ont montré qu'une augmentation de la rigidité des substrats d'alginate de sodium et d'oligosaccharides d'alginate (d'environ 150 kPa à 300 kPa) induisait une diminution de l'activité antifongique de *C. albicans*, et donc qu'une augmentation du module élastique du substrat favoriserait la dispersion des levures. Toutefois, Cascione et al. (Cascione et al. 2021) ont montré que l'augmentation de la teneur en nanoparticules de dioxyde de titane et en nanotubes d'argile halloysite respectivement induisait une augmentation d'élasticité des surfaces (d'environ 5 GPa à 9 GPa, et d'environ 2,5 GPa à 3,5 GPa, respectivement), mais ne provoquait pas significativement des modifications d'adhésion de *C. albicans*. Cela pourrait être dû ici aux très fortes gammes d'élasticités utilisées dans ces travaux, qui placent les levures dans des conditions supra-physiologiques de l'ordre du GPa. Par ailleurs, le « sensing » des propriétés mécaniques de

leur environnement liquide ou solide n'est, à notre connaissance, pas abordé dans la littérature.

Les connaissances concernant l'influence des propriétés mécaniques sur l'adhésion des levures se révèlent donc être quasi-inexplorées. L'objectif principal de cette étude *in vitro* était donc d'étudier l'influence de différents substrats d'hydratation et d'élasticité variables sur l'adhésion de *C. albicans*. L'effet de l'élasticité et de l'hydratation de la surface du substrat a été évalué en termes de nombre de cellules adhérentes et de modifications du protéome.

## 2. Etude de l'influence des propriétés mécaniques du substrat sur l'adhésion et la mobilité de *C. albicans*

Ainsi, dans cette étude, nous avons étudié le comportement des levures entrant en contact avec des surfaces avec différentes viscoélasticité et hydratation en condition immergée sans étape de dé mouillage des surfaces (analyse de l'adhésion cellulaire). Nous avons mené cette étude en étudiant le comportement de *C. albicans* sur les PDMS et les hydrogels HA.

Le souche clinique *C. albicans* 1902m27011801 a été utilisée dans cette étude. Les cellules fongiques adhérentes ont été visualisées *in situ* dans le dernier milieu de lavage au microscope confocal, après avoir été colorées en Syto9®. Au moins 5 images et 5 vidéos d'une minute (1 image toutes les 5 s) ont été prises pour chaque échantillon. Le nombre de cellules fongiques adhérentes a été déterminé manuellement, et analysé avec des tests de Student.

### 2.1. Adhésion de *C. albicans* sur des substrats PDMS de boîtes de culture Ibidi®

Des expériences ont été menées sur des substrats PDMS de boîtes Ibidi® de 1,5 kPa, 15 kPa, et avec une feuille de MPa. Trois expériences indépendantes ont été réalisées, et les taux de recouvrement de *C. albicans* ont été déterminés. Premièrement, les cellules adhérentes étaient présentes uniquement sous forme unicellulaire ronde (Figure 44-A) ; aucun hyphes ni pseudohyphes n'a été observés lors de ces expérimentations. La taille d'une cellule était quasi-identique en fonction de tous les substrats étudiés ici. Deuxièmement, de la même façon que pour les expériences avec les bactéries, une répartition inhomogène des levures adhérentes a été observée (Figure 44-B). Sur cette figure, la numérotation des images correspond à celle schématisée dans la Figure 40-A, et on observe que, quel que soit le substrat, les images 3, 4, 8 et 9 (i.e. celles correspondant à la région centrale de l'échantillon) présentent un taux de recouvrement supérieur à celui des autres images.

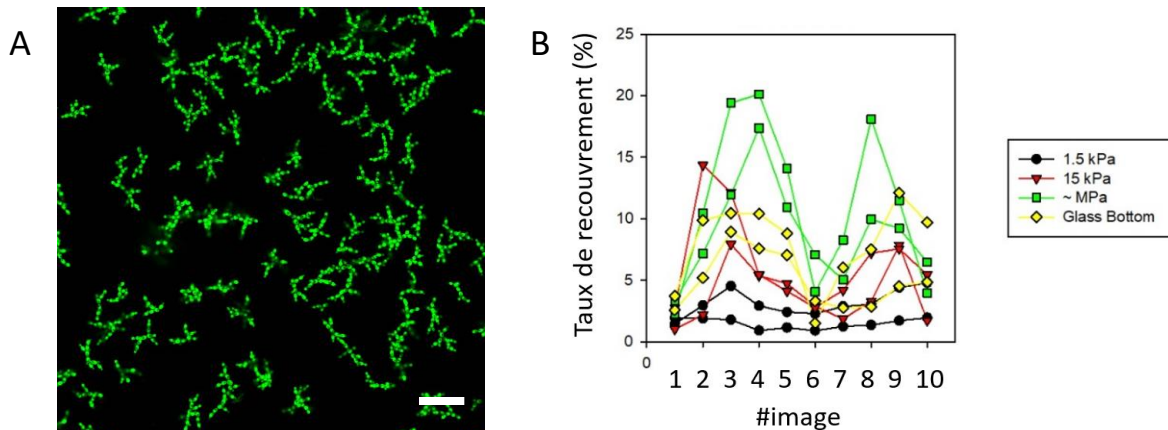


Figure 44 : *C. albicans* sur les boîtes de culture Ibidi® avec un coating de PDMS. (A) *C. albicans* sur une Ibidi® 1,5 kPa. Barre d'échelle 40  $\mu\text{m}$ . (B) Exemple de répartition non-homogène de *C. albicans* dans les Ibidi® PDMS et Glass Bottom.

Par ailleurs, en regroupant toutes les images et toutes les zones pour chaque substrat, la Figure 45-A est obtenue. Bien qu'une tendance soit distinguée dans cette figure, les résultats ont démontré que l'élasticité du substrat n'influait pas significativement le taux de recouvrement des levures, donc par extension (en prenant comme hypothèse que les cellules ont des tailles similaires quel que soit le substrat ici, ce qui a été confirmé par des analyses des tailles des cellules adhérentes : elles font en moyenne  $14 \pm 1 \mu\text{m}^2$  tous substrats confondus) n'impactait pas significativement le nombre de cellules adhérentes. Sur les trois expérimentations indépendantes, deux ont donné des tendances similaires (i.e. une augmentation du taux de recouvrement avec une diminution de l'élasticité du substrat), et une dernière a donné des tendances contraires (Figure 45-B). Comme pour les bactéries étudiées dans des boîtes de culture Ibidi® avec un coating de PDMS, les résultats sont peut-être « biaisés » par la répartition non homogène des cellules sur la totalité du substrat, potentiellement liée à un phénomène de sédimentation, qui empêcherait alors de discerner l'effet des propriétés mécaniques des substrats sur l'adhésion cellulaire.

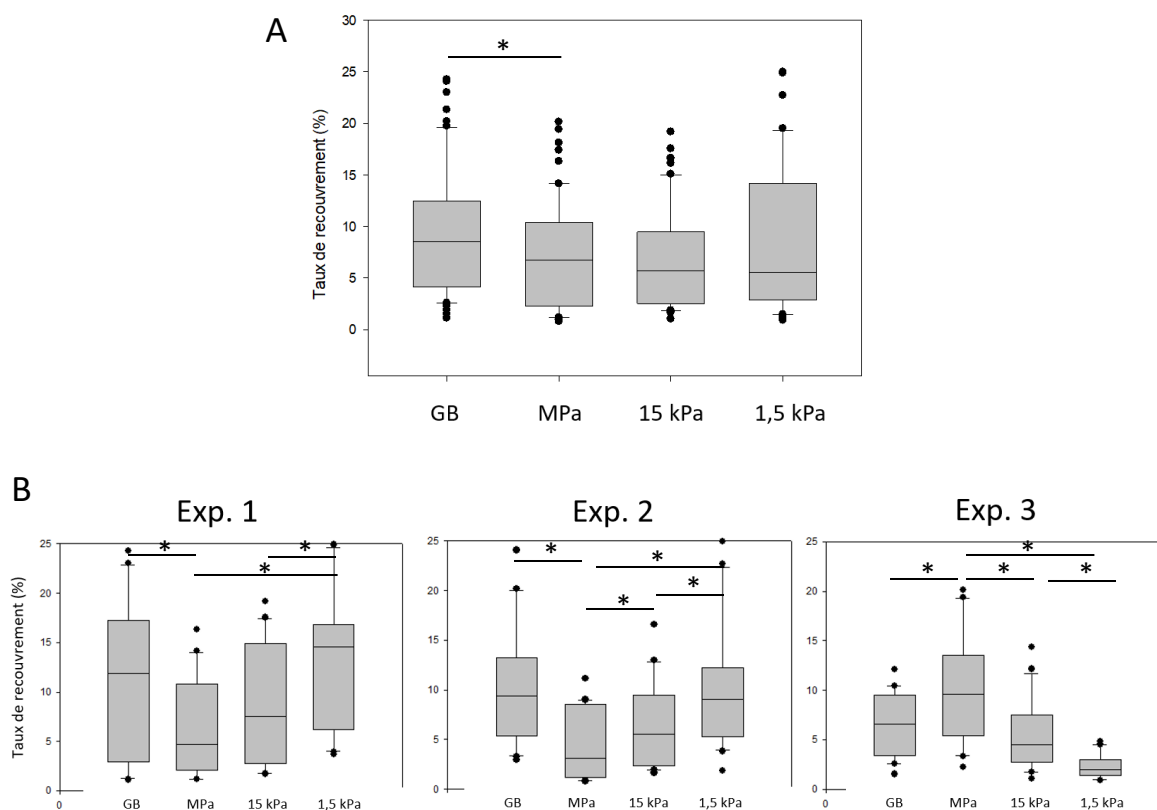


Figure 45 : Taux de recouvrement de *C. albicans* sur les substrats des boîtes de culture Ibidi®. (A) Taux de recouvrement des trois expériences indépendantes regroupées. (B) Taux de recouvrement des trois expériences indépendantes non regroupées. Les deux premières manipulations montrent des tendances similaires (augmentation du taux de recouvrement avec la diminution de l'élasticité du substrat), tandis que la dernière expérimentation montre des tendances inverses (diminution du taux de recouvrement avec la diminution de l'élasticité du substrat). \* différence significative (t-test,  $p < 0,05$ ).

2.2. Adhésion de *C. albicans* sur des PDMS avec une finition manuelle et des hydrogels HA

Dans un second temps, l'adhésion des cellules fongiques sur les substrats PDMS (1:80 et 1:5) et hydrogels (10% et 30% HA/BDDE) a été considérée après 3 h d'inoculation. Sur tous les substrats, nous avons observé *C. albicans* dans ses trois états morphologiques, à savoir sous forme unicellulaire ronde, sous forme d'hyphes et sous forme de pseudohyphes. Ce faisant, nous avons analysé le nombre de levures adhérentes en réalisant des sous-catégories : une première sous-catégorie appelé « cellule » regroupait toutes les cellules sous forme arrondie, un seconde sous-catégorie, appelé « hyphe », regroupait les pseudohyphes et les hyphes, et une troisième nommée « total » regroupait les deux premières sous-catégories (c'est-à-dire toutes les morphologies ensemble) des cellules adhérentes (Figure 46).

Tout d'abord, nous nous sommes concentrés sur la comparaison de l'adhésion de *C. albicans* en examinant le nombre total de cellules, qu'il s'agisse de cellules unicellulaires arrondies, d'hyphes ou de pseudohyphes. Aucune différence significative en fonction de la rigidité des substrats PDMS n'a été trouvée. Cependant, sur les hydrogels HA, une augmentation de

l'élasticité induit une augmentation du nombre total de cellules adhérees. Ce faisant, nous avons démontré que le nombre d'hyphes adhéres au PDMS mou est significativement inférieur à celui du PDMS dur. Ainsi, l'augmentation de l'élasticité du substrat PDMS favoriserait la formation d'hyphes. Ce n'était pas le cas sur HA, où le nombre d'hyphes entre les HA mous et durs ne variait pas de manière significative. Pour les cellules unicellulaires, elles ont été trouvées en plus grand nombre sur le HA dur que sur le HA mou. Cette observation n'a pas été trouvée sur les substrats PDMS, où une augmentation de la rigidité de surface n'a pas induit de manière significative un changement dans le nombre de cellules adhérees de forme ronde.

D'autre part, à des élasticités similaires, c'est-à-dire PDMS 1:80 et 30% HA/BDDE, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de différence significative dans le nombre de cellules unicellulaires, ni dans le nombre de cellules totales. Mais il est intéressant de noter que les hyphes étaient présents en nombre significativement plus important sur le PDMS 1:80 que sur le 30% HA/BDDE. Or, comme évoqué précédemment, de façon identique aux bactéries, les différences de chimie et de topographie de surface ne devraient pas avoir d'impact direct sur l'adhésion des levures. Ainsi, les substrats non hydratés semblent favoriser la formation d'hyphes par rapport à des substrats hydratés. La raison de ces différences n'est pas connue et aucune hypothèse n'a encore pu être émise.

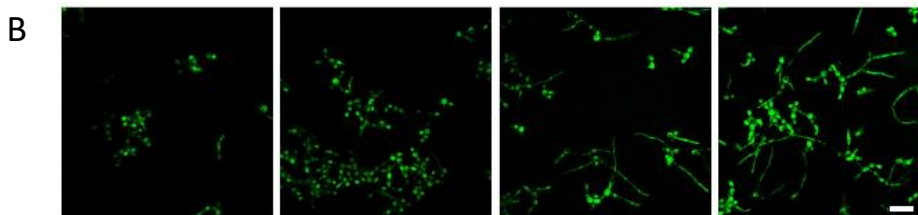
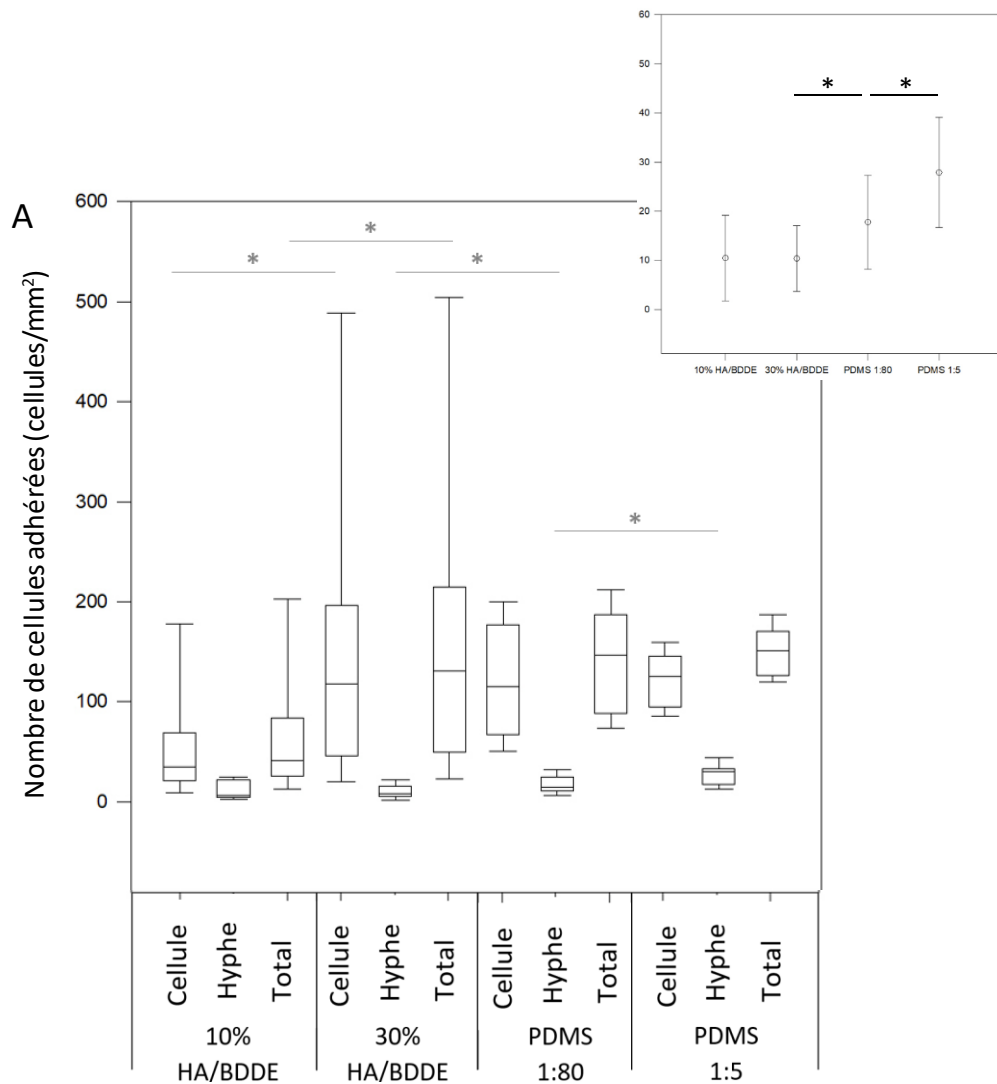


Figure 46 : *C. albicans* sur des substrats PDMS et HA. (A) Dénombrement de *C. albicans* sur PDMS et HA sous forme de cellule arrondie (« cellule »), sous forme de structure filamenteuse (« hyphe ») et sous les deux formes (« total »). L'encart en haut à droite est reprend les résultats pour le dénombrement des hyphes sur les différents substrats. \* différence significative (t-test,  $p < 0,05$ ). (B) Images confocales de *C. albicans* sur PDMS et HA. Barre d'échelle = 20  $\mu\text{m}$ .

2.3. Mobilité de *C. albicans* sur des PDMS avec une finition manuelle et des hydrogels HA  
 En plus de l'information de dénombrement, la mobilité des cellules fongiques adhérentes aux substrats PDMS et HA a été étudiée. Des acquisitions de film d'une minute ont permis de montrer que les cellules de *C. albicans* adhérentes sur PDMS et sur HA effectuaient un déplacement moyen sur une minute de  $0,28 \pm 0,16$  et  $0,26 \pm 0,15$   $\mu\text{m}$  sur 10% et 30% HA/BDDE



respectivement, et  $0,32\pm 0,20$  et  $0,33\pm 0,18$   $\mu\text{m}$  sur PDMS 1:80 et 1:5 respectivement. Les cellules fongiques étaient donc quasi-immobiles. Une mobilité très faible pouvait apparaître lorsque plusieurs cellules étaient regroupées et que le groupe se scindait. Ces résultats sont concordants avec ce qui est exposé dans la littérature (Palková et al. 1997 ; Flor-Parra et al. 2013).

#### 2.4. Le devenir des cellules adhérees et l'analyse de leur protéome

Pour compléter ces études, des analyses des biofilms ainsi que du protéome des bactéries adhérees sont en cours de réalisation. L'analyse des biofilms permettrait de dégager si les tendances observées à court terme (i.e. 3 h) sont retrouvées à long terme. Notamment, cela permettrait de savoir si la présence en plus grande quantité d'hyphes favorise un développement de biofilm plus avancé (biofilms plus épais par exemple). L'étude du protéome apporterait des informations sur les protéines mises en place dans les étapes d'adhésion et donnerait des pistes pour mieux comprendre les phénomènes observés.

### 3. Conclusion

Nous avons mis en évidence dans ces travaux que les levures *C. albicans* étaient affectées par les propriétés mécaniques du substrat. En effet, l'augmentation de l'élasticité du substrat PDMS favoriserait la formation des structures filamenteuses de *C. albicans* (hyphes et pseudohyphes), car retrouvées en plus grand nombre, mais n'aurait pas d'influence significative sur l'adhésion de cellules arrondies. Par ailleurs, sur les hydrogels HA, les variations d'élasticité du substrat n'ont pas influencé significativement le nombre de structures filamenteuses adhérees. Toutefois, sur ces substrats, l'augmentation de l'élasticité du substrat a induit une augmentation du nombre de cellules arrondies adhérees. Ainsi, il semblerait qu'une augmentation de la rigidité favoriserait la formation de structures filamenteuses sur les PDMS, tandis qu'elle favoriserait l'adhésion de cellules de forme arrondies sur les hydrogels HA, sans que nos recherches bibliographiques puissent en déterminer la cause. En outre, à des élasticités similaires, c'est-à-dire en comparant les résultats des substrats PDMS 1:80 et 30% HA/BDDE, nous avons constaté qu'il n'y avait pas de différence significative dans le nombre de cellules arrondies, mais que les structures filamenteuses étaient présentes en plus grand nombre sur les PDMS que sur les hydrogels HA, de façon non expliquée. Comme évoqué précédemment, de façon identique aux bactéries, les différences de chimie et de topographie de surface ne devraient pas avoir d'impact direct

sur l'adhésion des levures. Ainsi, l'hydratation des substrats semble défavoriser la formation des structures filamenteuses. La raison de ces différences morphologiques n'est pas connue, mais d'après Jackson et al. (Jackson et al. 2014), les surfaces non hydratées composées de résine acrylique semblent être mieux colonisées par des cellules sous forme filamenteuse. Des études complémentaires seront nécessaires pour mieux comprendre la réponse fongique sur des substrats à élasticités variables avec des hydratations différentes.

## Conclusion générale et perspectives

A travers ce manuscrit, en plus d'étudier l'influence de l'élasticité et de l'hydratation de surface de substrats sur l'adhésion, la mobilité et le devenir de cellules bactériennes et fongiques, nous avons étudié les protéomes bactériens en réponse aux propriétés mécaniques des substrats.

Nous avons montré que les **bactéries adhérent** en plus grande nombre sur les hydrogels durs (2,2 kPa) comparé aux hydrogels mous (44 Pa). Inversement, les bactéries adhèrent en nombre plus réduit sur les PDMS durs (574 kPa) comparé aux PDMS mous (8,7 kPa). Par ailleurs, la **mobilité des bactéries** adhérentes est également impactée par la rigidité du substrat. En effet, la fraction de bactéries mobiles, c'est-à-dire les bactéries définies arbitrairement comme effectuant un déplacement de plus de 2  $\mu\text{m}$  en une minute entre leur position initiale et leur position finale, varie en fonction du matériau : elle est similaire entre les PDMS mous et durs et les hydrogels HA durs, mais est environ trois fois inférieure sur l'hydrogel HA mou. En d'autres termes, une grande majorité des bactéries adoptent un comportement immobile sur les surfaces d'hydrogel HA mou, tandis que la plupart des bactéries sont mobiles sur les autres surfaces. L'hypothèse du mouvement brownien est alors faite pour pouvoir caractériser les sous-populations bactériennes qui semblent présenter des caractéristiques de mobilité distinctes les unes par rapport aux autres. En effet, le modèle du mouvement brownien lié (i.e. une particule est modélisée comme liée à un point, au centre d'un puits d'un diamètre donné, par un ressort avec une certaine constante de raideur) semble être pertinent pour décrire le comportement d'une bactérie potentiellement liée et attachée à la surface d'un matériau par des systèmes d'accroche, qui lui permettent tout de même de bouger, mais sans l'éloigner d'un point fixe. Ainsi, sous l'hypothèse du mouvement brownien, nous avons montré que les bactéries adhérentes sur un substrat ne pouvaient pas être regroupées en une unique population avec un coefficient de diffusion et un rayon de confinement identiques : l'analyse de la mobilité bactérienne a révélé la coexistence de plusieurs sous-populations sur chaque surface, avec des caractéristiques de mouvement spécifiques, parfois opposées (confinée ou libres) et des coefficients de diffusions différents.

En outre, la cinétique de croissance du **biofilm d'*E. coli*** ainsi que la production de matrice polymère sont affectées par le matériau. En effet, nous avons montré que la quantité de matrice extracellulaire produite par les bactéries était beaucoup plus élevée que les PDMS mous que sur les hydrogels HA durs, et était presque totalement absente sur les hydrogels HA mous, suggérant que la production de matrice extracellulaire ou son attachement à la surface a été affectée par l'hydratation ou la souplesse élevée des hydrogels HA par rapport aux matériaux PDMS.

Dans ces travaux, il a été également démontré que les cellules d'*E. coli* adhérentes sont capables de répondre et/ou sentir différemment les propriétés mécaniques du substrat en modifiant leur **protéome**. Une plus grande abondance de canaux mécanosensibles sur les hydrogels mous pourrait provenir de l'augmentation de la surface de contact surface-bactérie (en raison de l'augmentation de l'indentation) sur le matériau HA très mou par rapport aux autres matériaux, pouvant augmenter la stimulation mécanique des bactéries adhérentes. De plus, cette plus grande abondance des canaux mécanosensibles sur les hydrogels mous peut également être due à la condition très hydratée du substrat, mimant un environnement physiologique proche de celui que peuvent avoir les bactéries à l'état planctonique, état pour lequel les bactéries détectent les caractéristiques mécaniques de leur environnement liquide en utilisant ces canaux mécanosensibles. Par ailleurs, la forte abondance des pili de type I sur les PDMS mous a signé une colonisation plus avancée par rapport aux autres matériaux.

Pour la première fois, il a été démontré que **les levures** étaient affectées par les propriétés mécaniques du substrat. Nous avons en effet découvert que *C. albicans* que l'augmentation de l'élasticité du substrat PDMS favoriserait la formation des structures filamenteuses de *C. albicans* (hyphes et pseudohyphes), car retrouvées en plus grand nombre, mais n'aurait pas d'influence significative sur l'adhésion de cellules arrondies. Par ailleurs, sur les hydrogels HA, les variations d'élasticité du substrat n'ont pas influencé significativement le nombre de structures filamenteuses adhérentes. Toutefois, sur ces substrats, l'augmentation de l'élasticité du substrat a induit une augmentation du nombre de cellules arrondies adhérentes. Ainsi, il semblerait qu'une augmentation de la rigidité favoriserait la formation de structures filamenteuses sur les PDMS, tandis qu'elle favoriserait l'adhésion de cellules sous forme arrondies sur les hydrogels HA. En outre, à des élasticités similaires, c'est-à-dire en comparant les résultats des substrats PDMS 1:80 et 30% HA/BDDE, nous avons constaté qu'il n'y avait pas

de différence significative dans le nombre de cellules arrondies, mais que les structures filamenteuses étaient présentes en plus grand nombre sur les PDMS que sur les hydrogels HA. Comme évoqué précédemment, de façon identique aux bactéries, les différences de chimie et de topographie de surface des ne devraient pas avoir d'impact direct sur l'adhésion des levures. Ainsi, l'hydratation des substrats semble défavoriser la formation des structures filamenteuses. Des études complémentaires sont toutefois nécessaires pour appréhender les raisons de ces observations.

Les travaux présentés dans les Chapitres 3 et 4 nous ont amené à nous orienter vers des pistes expérimentales complémentaires. Certaines de ces expériences sont en cours, tandis que d'autres nécessitent des optimisations protocolaires. Nous nous proposons de discuter de ces perspectives dans la suite de cette partie. Brièvement, l'étude des comportements microbiens sur des substrats birigidité ou sur des substrats avec des gradients en élasticité pourrait nous donner des informations sur la capacité des microorganismes à s'orienter vers un environnement mécanique plus favorable pour leur développement. L'analyse des curli (via le MEB, des marquages et l'utilisation de drogues) permettrait de savoir si les propriétés mécaniques des substrats influencent la production de ces appendices utilisés lors de l'étape d'adhésion d'*E. coli*. En outre, une étude PCR donnerait des informations complémentaires aux études protéomiques déjà menées, pour déterminer de façon plus précise la réponse biologique spécifique des bactéries au contact avec des surfaces aux élasticités variables avec différentes hydratations. Par ailleurs, les résultats dégagés sur la formation de biofilm bactérien montrent que les bactéries *E. coli* pourraient répondre différemment à l'ajout d'un agent antibactérien ou à un flux hydrodynamique en fonction des propriétés mécaniques du substrat. Ainsi, les études de la sensibilité à des antibiotiques et à l'influence d'un flux sont des pistes importantes de ces travaux pour pouvoir mieux comprendre les rôles joués de l'élasticité et de l'hydratation des biomatériaux utilisés dans des conditions *in vivo*.

#### 5.1. Etude du comportement microbien à la frontière de deux élasticités

Contrairement aux cellules eucaryotes, il n'a pas encore été démontré dans la littérature, à notre connaissance, que les bactéries étaient capables d'orienter leurs déplacements en fonction de la rigidité du substrat. Il serait donc très intéressant de vérifier la capacité des cellules *E. coli* à migrer sur des microenvironnements aux propriétés élastiques changeantes. Pour cela, nous avons envisagé de mettre en place des expériences pour savoir si les bactéries

migrent préférentiellement ou non vers des zones molles ou dures d'un substrat birigidité. Pour cela, nous avons adapté un substrat de PDMS birigidité existant (développé par C. Ehlinger au laboratoire), avec une faible rigidité dans la région centrale et avec rigidité élevée dans la région périphérique (Figure 47-A). En l'occurrence, nous avons choisi d'utiliser des PDMS birigidité de deux types : un duo PDMS 1:80 et 1:5, et un duo PDMS 1:40 et 1:5.

Les échantillons ont été inoculés avec des bactéries *E. coli* SCC1 selon le même protocole que pour l'étude de l'adhésion sur les PDMS mono-rigidité, puis ont été visualisés par microscopie confocale. Les images obtenues ont montré que les échantillons birigidité n'étaient pas assez plans pour pouvoir visualiser la frontière entre les deux types de PDMS avec précision (Figure 47-B). En effet, les techniques d'obtention de ces substrats birigidité font qu'une légère « crête » sépare le PDMS mou du PDMS dur. A l'échelle de la bactérie, la hauteur de cette crête est trop importante pour visualiser correctement les bactéries proches de la frontière.

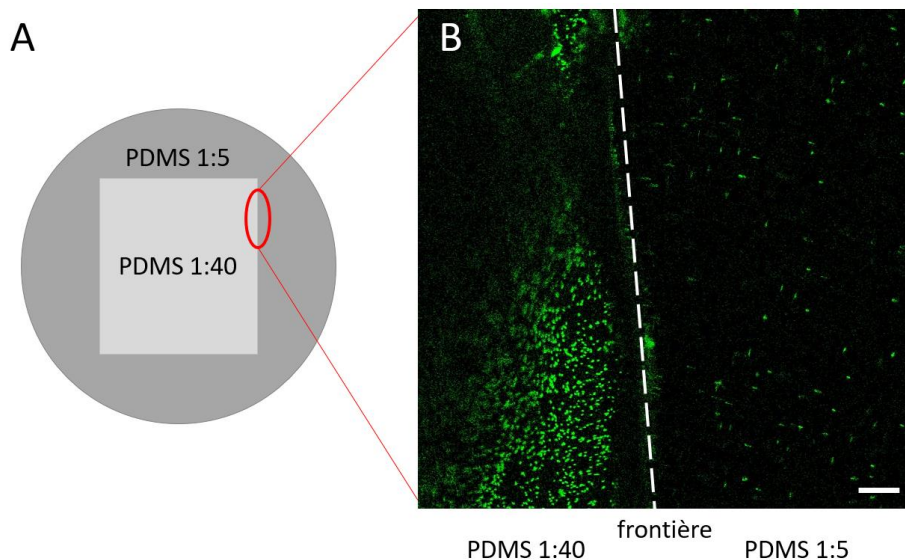


Figure 47 : PDMS birigidité. (A) Représentation d'un échantillon de PDMS birigidité 1:40 VS 1:5. (B) Image confocale d'*E. coli* SCC1 à la frontière entre les deux PDMS. Barre d'échelle 70  $\mu\text{m}$ .

Pour obtenir des surfaces plus planes, une tentative de découpe par cryotome a été réalisée. Pour cela, les disques de PDMS birigidité ont été placés à  $-80^{\circ}\text{C}$  toute une nuit, et la découpe a été faite par micro-cryotome. Cette technique n'a pas donné de résultats concluants : le maximum des épaisseurs des tranches pouvant être produites par le cryotome étaient de 50  $\mu\text{m}$ , ce qui s'est révélé être trop fin et les coupes ont cassé, avec ou sans l'utilisation de résine OCT (Optimal Cutting Temperature Compound), un mélange de glycols, d'alcools et de résines qui fournit une matrice dans laquelle sont inclus les échantillons pour faciliter leur coupe. Une

optimisation de l'obtention de ces substrats est en cours pour obtenir des surfaces plus planes à la frontière entre les deux PDMS.

### 5.2. Etude du comportement microbien sur un gradient d'élasticité

Afin d'explorer l'application potentielle des variations de rigidité des substrats dans le contrôle des réponses des organismes adhérents dessus, des substrats affichant une rigidité latérale et sans interruption graduée sont avantageux puisqu'ils permettent l'exploration systématique de la réponse des cellules adhérentes. Wang et al. (Wang, Tsai, et Voelcker 2012) ont proposé une approche simple vers la fabrication de gradients de rigidité de PDMS (avec un module élastique compris entre 190 kPa à 3,1 MPa, sur une distance de 12 mm) au moyen d'un gradient de température pendant l'étape de durcissement. Ainsi, dans cette publication, le gradient est fait à partir d'une unique mixture PDMS, et l'obtention d'un gradient de température contrôlé permet d'obtenir un gradient de réticulation du PDMS. Une autre technique consiste à superposer deux types de mixture de PDMS, l'une étant avec un faible ratio base/agent réticulant, l'autre, au contraire, présentant un fort ratio base/agent réticulant. Ces techniques n'ont pas été retenues dans la suite de nos travaux. En effet, les échantillons présentaient une taille trop importante pour être analysés sous microscope confocal.

### 5.3. Visualisation directe des appendices pili et curli

Pour approfondir notre étude sur l'influence de la rigidité et de l'hydratation de substrat sur la formation de pili et de curli, nous avons lancé des manipulations de microscopie électronique à balayage. Les protocoles mis au point au laboratoire se sont basés sur des protocoles déjà routiniers au sein du laboratoire et se sont également inspirés d'études visualisant ces structures (Rizzello et al. 2011 ; Svensson, Säve, et Persson 2009 ; Soonthornchai et al. 2015).

La souche *E. coli* K-12 PHL 1270 a été utilisée dans cette étude, notamment pour l'observation de curli et le contrôle visuel de leur production. Les bactéries ont été imagées avec un MEB (FEI Company, Eindhoven, Pays-Bas). Une optimisation du protocole est en cours, en particulier en ce qui concerne l'étape classique de fixation des échantillons. Des résultats préliminaires ont été obtenus sur verre et sur hydrogels HA (Figure 48), mais dont la qualité doit encore être améliorée pour ensuite permettre une observation pertinente de la présence

des curli, et idéalement, une quantification sur un nombre d'images statistiquement pertinent.

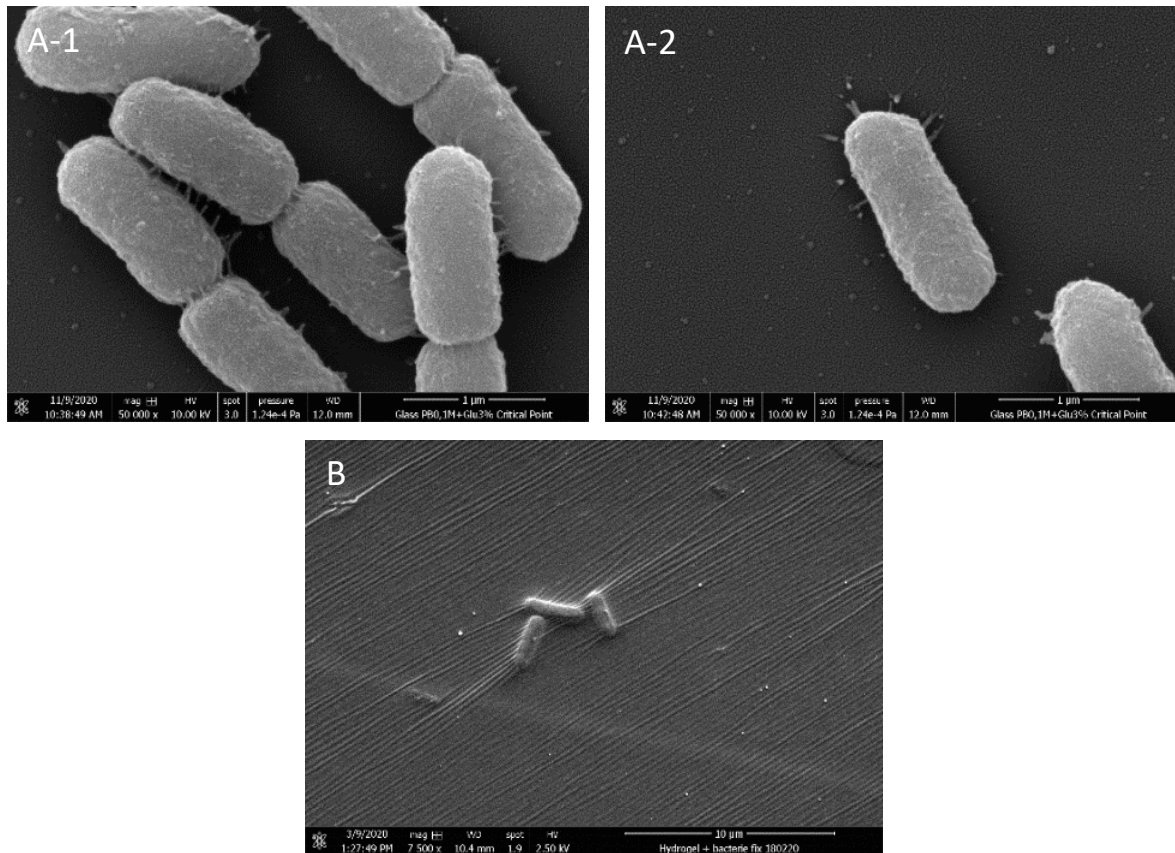


Figure 48 : Images MEB d'*E. coli* PHL 1270 sur lamelle de verre (A-1 et A-2) et sur hydrogel 30% HA/BDDE (B).

#### 5.4. Marqueur fibre amyloïde Thioflavin A

Une autre approche a été utilisée pour analyser l'influence de l'élasticité et de l'hydratation des substrats sur la production de curli. Celle-ci consistait à utiliser de la Thioflavin A (ThT) sur des cultures d'*E. coli* SCC1, un marqueur de fibres amyloïdes qui s'incorpore dans les rainures formées par des feuilletés bêta de fibrilles le long du grand axe de la fibre perpendiculaire aux feuilletés bêta (Krebs, Bromley, et Donald 2005 ; Biancalana et Koide 2010). Le but était ici de marquer les fibres amyloïdes, et de quantifier la fluorescence émise, proportionnelle à la quantité de curli dans l'échantillon analysé.

Des résultats préliminaires ont été obtenus, avec des spectres de fluorescence de la ThT libre et liée réalisés avec un spectrofluorimètre (SAFAS Xenius XC spectrofluorimeter, Monaco), à différentes concentrations, avec et sans bactéries cultivées sur une lamelle de verre. Des optimisations protocolaires sont nécessaires pour déterminer les concentrations optimales de marqueur et de bactéries, qui permettront d'identifier des différences des spectres d'émission



entre les différentes conditions (pour l'instant les décalages des spectres sont trop faibles), pour *in fine* pouvoir quantifier les fibres amyloïdes.

### 5.5. Etude génomique d'*E. coli*

Dans nos travaux, pour compléter l'étude protéomique, il serait intéressant de nous orienter vers une étude de l'expression génomique d'*E. coli* SCC1 en condition de culture statique. L'objectif de ce travail serait de déterminer de façon plus précise la réponse biologique spécifique des bactéries au contact avec des surfaces aux hydratations et aux élasticités variables. Les expérimentations consisteraient alors à détacher les bactéries des substrats, à extraire l'ARNm bactérien, à amplifier *in vitro* des séquences spécifiques et définies de gènes d'intérêt, et finalement à quantifier l'expression des différents gènes ciblés en fonction de l'élasticité et de l'hydratation des substrats. Différents gènes pourraient être étudiés, notamment *csgA*, *fimA*, *flicC*, *wcaF*, *luxS*, *mscS* et *rpoS*, associés respectivement aux curli, aux pili de type 1, aux flagelles, à la biosynthèse d'acide colanique, à la production de cdi-GMP (molécule du quorum sensing), aux canaux mécanosensibles et au stress (Figure 49).

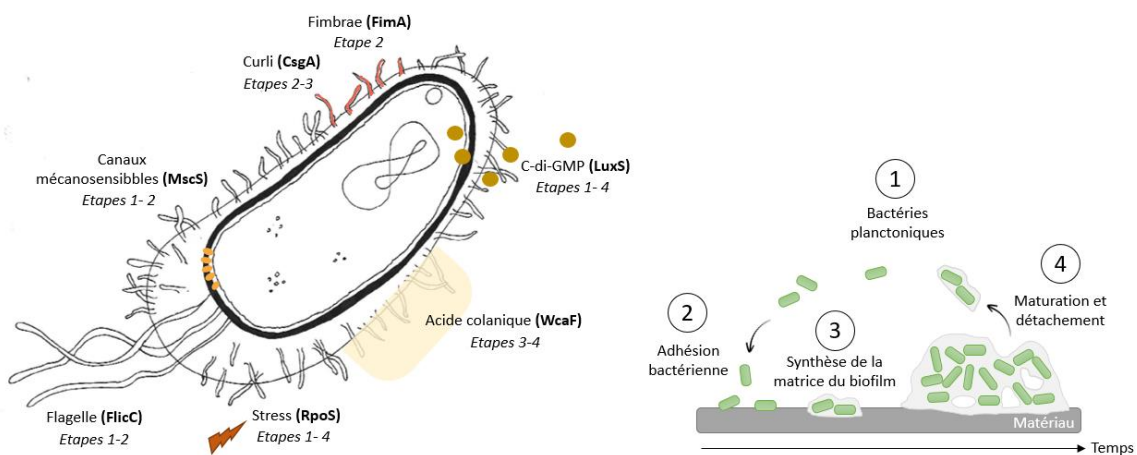


Figure 49 : Identification des gènes cibles pour l'étude génomique d'*E. coli*. Figure de droite inspirée de L. Ploux©.

### 5.6. Etude de la sensibilité des microorganismes à un agent antimicrobien en fonction des propriétés mécaniques du substrat

Les résultats dégagés sur la formation de biofilm bactérien montrent que les bactéries *E. coli* ont un retard dans leur développement de biofilm sur les hydrogels 10% HA/BDDE par rapport aux hydrogels 30% HA/BDDE, et sur les surfaces PDMS 1:5 par rapport aux PDMS 1:80. Or il est connu que le biofilm est une structure limitant l'action des agents antimicrobiens (Bjarnsholt 2013). Ainsi, il serait intéressant de tester la sensibilité des bactéries, à l'étape d'adhésion ainsi qu'à l'étape de formation de biofilm, envers des agents antimicrobiens.

L'hypothèse ici est que les bactéries adhérees en moins grand nombre sur les surfaces et formant par la suite des biofilms moins importants (i.e. 10% HA/BDDE et PDMS 1:5 par rapport à 30% HA/BDDE et PDMS 1:80 respectivement) seraient plus sensibles à l'action de substances antibactériennes. Le choix de ces substances pourrait s'orienter vers la tétracycline et la céfotaxime, antibiotiques commercialisés et utilisés en interne au laboratoire sur *E. coli*, séparément ou en association, en réalisant des tests de prévention et de curation sur les biofilms. Dans les travaux de Song et al. (2014), il a notamment été dégagé que les cellules d'*E. coli* adhérees sur des substrats PDMS 1:5 étaient moins sensibles aux antibiotiques testés dans l'étude (l'ofloxacine, l'ampicilline et la tobramycine) que les cellules fixées sur des substrats PDMS 1:40. Ces résultats ont révélé que l'élasticité de surface est une propriété importante du matériau qui influence la tolérance au stress des cellules du biofilm. La sensibilité des bactéries envers des peptides antimicrobiens, tel que la cateslytine utilisée au laboratoire, pourrait également être testée. En effet, les peptides antimicrobiens sont des petites protéines qui se composent de moins de 100 résidus d'acides aminés et qui ont des mécanismes différents de ceux des antibiotiques.

#### 5.7. Etude de la sensibilité des microorganismes à un flux hydrodynamique en fonction des propriétés mécaniques du substrat

Des estimations des forces d'adhésion entre des bactéries et une surface sont possibles en appliquant une contrainte de cisaillement connue dans des conditions de flux hydrodynamique. Cette contrainte de cisaillement produit une force et un couple hydrodynamiques qui peuvent détacher des cellules adhérees à une surface, voire détacher des cellules incluses dans une matrice de biofilm.

Les résultats obtenus lors de ces travaux de thèse ont montré que les bactéries répondaient différemment en fonction de l'élasticité et de l'hydratation du substrat sur lequel elles adhéraient et se développaient sous forme de biofilm. Cela suggère qu'elles pourraient également être influencées par la présence d'un flux hydrodynamique. Notamment, les biofilms formés sur les 10% HA/BDDE et sur les PDMS 1:5 sont moins développés que ceux formés sur les 10% HA/BDDE et sur les PDMS 1:80 respectivement, et pourraient donc être plus facilement détachables dans des conditions de flux. Des tests préliminaires sur lamelle de verre (Figure 50) ont été réalisés avec un appareil nouvellement acquis par le laboratoire, le système BioFlux™ 200. Des mises au point protocolaires seront nécessaires pour envisager utiliser cette technique avec des bactéries pouvant être mises en contact avec les matériaux

PDMS et HA. Les études de la sensibilité à des antibiotiques et à l'influence d'un flux sont des pistes importantes de ces travaux pour pouvoir mieux comprendre les rôles joués de l'élasticité et de l'hydratation des biomatériaux utilisés dans des conditions *in vivo*.

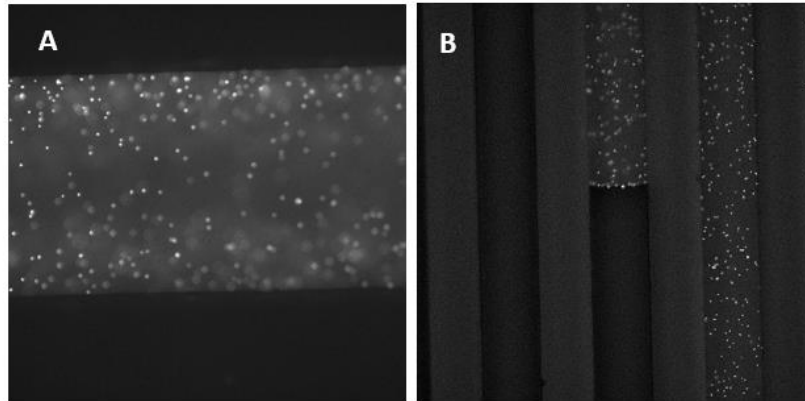


Figure 50 : *E. coli* SCC1 dans capillaire microfluidique sans application de flux. (A) Visualisation des bactéries planctoniques dans le capillaire. (B) Visualisation de plusieurs lignes du capillaire, avec la présence d'air (zone noire) et une limite air/solution bactérienne (au centre de l'image). Objectif x20.

Finalement, ces différentes perspectives permettront plusieurs avancées : une meilleure compréhension du rôle joué par les curli lors des étapes d'adhésion permettrait d'explorer d'avantage les appendices connus comme favorisant l'adhésion bactérienne, pour pouvoir peut-être en modifier l'expression avec les propriétés mécaniques des substrats ; des travaux permettant de mieux comprendre le rôle des propriétés mécaniques des substrats sur l'adhésion bactérienne dans des conditions se rapprochant de conditions *in vivo*, notamment avec des études de la sensibilité des bactéries à des antibiotiques ou à un flux hydrodynamique, seraient fortement bénéfiques pour le développement de surfaces aux propriétés antimicrobiennes préventives. Nos résultats, loin de répondre à toutes nos interrogations, ouvrent donc des perspectives de recherche passionnantes à développer.



# Résumé de thèse

## **Contexte et positionnement du travail de thèse**

Les contaminations des surfaces médicales par des bactéries et des levures sont responsables de nombreuses infections en pratique clinique, conduisant à une utilisation accrue des agents antimicrobiens, tels que les antibiotiques, et à l'émergence conséquente d'une résistance microbienne à ces agents antimicrobiens. La demande en revêtements préventifs de l'adhésion microbienne n'a donc jamais été aussi forte.

Les propriétés mécaniques des surfaces des matériaux, notamment l'élasticité et l'hydratation de surface, sont récemment apparues comme un potentiel outil pour limiter l'adhésion microbienne. Cependant, de nombreuses questions n'ont pas encore été élucidées. L'objectif de cette thèse est donc de répondre au besoin de mieux connaître les rôles joués par l'élasticité et l'hydratation de surface dans l'infection de biomatériaux, plus spécifiquement aux comportements et aux réponses biologiques d'une bactérie Gram négative (*Escherichia coli*) et d'une levure (*Candida albicans*) sur des biomatériaux hydratés et non hydratés de différentes élasticités, pour ensuite pouvoir cibler des matériaux avec un couple élasticité/hydratation adéquat pour prévenir l'adhésion des microorganismes pionniers. Cela permettrait de proposer voire de développer des matériaux avec des propriétés mécaniques spécifiques pour des dispositifs médicaux (DM), pour *in fine* limiter, par exemple, les infections microbiennes de prothèses ou de cathéters et de répondre ainsi à un problème de santé publique majeur.

## **Choix de modèles d'étude, principaux résultats et perspectives**

Dans cette étude, nous avons opté pour des matériaux pouvant mimer les propriétés mécaniques de tissus du corps humain en termes d'élasticité et d'hydratation et qui sont d'ores et déjà utilisés dans le développement de DM. Ces tissus peuvent être comparés à des matériaux mous et hydratés (comme le mucus ou le cerveau), et des matériaux moins hydratés dont les propriétés de rigidité sont comprises entre le mou et le rigide (comme les muscles, la peau ou le cartilage) (Guimarães et al. 2020). Nous nous sommes ainsi orientés vers des hydrogels d'acide hyaluronique (HA) développés au sein du laboratoire INSERM 1121 Biomatériaux et Bioingénierie pour représenter les matériaux mous et hydratés, et des

substrats de polydiméthylsiloxane (PDMS) pour représenter les matériaux souples et rigides non-hydratés. Outre la particularité d'être biocompatibles et transparents (intérêt en microscopie confocale inversée), ces deux types de matériaux ont des élasticités modulables, notamment en modifiant leurs taux de réticulation.

Ainsi, nous avons réalisé des gammes en élasticité des hydrogels HA et des PDMS. Faire varier les propriétés mécaniques des substrats en modifiant leurs taux de réticulation présente toutefois des limites. En effet, certains niveaux de réticulations des matériaux n'étaient plus compatibles avec la tenue globale de l'échantillon. Notamment, les hydrogels avec des forts taux d'agent réticulant (au-dessus de 30% v/v) étaient cassables, et non manipulables pour les expérimentations microbiologiques, tandis que les hydrogels avec des faibles taux d'agents réticulant (en dessous de 10% v/v) étaient trop peu réticulés, donc trop fluides, pour être également manipulés pour la suite des expériences. De façon similaire, les PDMS avec un fort ratio base/agent réticulant (en dessous de 1:80) étaient trop peu formés et trop visqueux pour être manipulés.

Une caractérisation fine des biomatériaux utilisés dans cette étude a été réalisée. Ainsi, la topographie et la chimie de surface, l'élasticité, la viscoélasticité, la mouillabilité et le taux d'hydratation des échantillons de PDMS et d'hydrogels HA ont été étudiés. Le module élastique a été estimé par deux techniques différentes, à savoir par nanoindentation et par rhéologie. En effet, la nanoindentation permet de donner des informations concernant les propriétés élastiques de surfaces, qui sont celles susceptibles d'être senties par un microorganisme venant au contact de la surface du matériau. Quant aux mesures rhéologiques, elles permettent de déterminer les caractéristiques à la fois visqueuses et élastiques du matériau.

Ces biomatériaux ont été mis en contact avec différentes souches de microorganismes. Deux types de procaryote et d'eucaryote ont été sélectionnés : des bactéries et des levures. La bactérie modèle *Escherichia coli* (*E. coli*) K12 SCC1 (Miao et al. 2009) a été choisie dans cette étude notamment pour sa particularité à disposer d'une inclusion GFP (Green Protein Fluorescent) dans son génome, qui lui confère une propriété très intéressante d'auto-fluorescence quand elle est métaboliquement active. Cette propriété facilite ainsi sa visualisation lorsqu'elle est étudiée via des appareils exploitant les propriétés de fluorescence. Pour les levures, le choix s'est orienté vers une levure largement répandue dans

l'environnement clinique (Pfalter et Diekema 2007 ; Ganguly et Mitchell 2011 ; Calderone et Clancy 2012), *Candida albicans* (*C. albicans*). La souche utilisée dans ces travaux est issue d'un patient présentant une infection d'un DM avec formation d'un biofilm, et donc potentiellement plus encline à former des biofilms lors de cultures in vitro.

Dans ces travaux, des études d'adhésion, de formation de biofilm, de mobilité cellulaire et de protéome ont été réalisées. Ces études ont mis en lumière que l'élasticité et l'hydratation de surface d'un biomatériau peuvent induire une réponse différente des microorganismes. Ainsi, ces travaux constituent une base de connaissances pour le développement de nouveaux matériaux aux propriétés recherchées pour lutter contre les colonisations bactériennes et fongiques, et présentent en ce sens une avancée pour l'ingénierie tissulaire. De nombreuses perspectives à ces travaux peuvent être envisagées, telles que l'étude de la sensibilité des bactéries à l'ajout d'un agent antimicrobien ou d'un flux hydrodynamique, qui sont des pistes importantes pour pouvoir se rapprocher des applications médicales en comprenant mieux les rôles joués par l'élasticité et l'hydratation des biomatériaux utilisés dans des conditions plus proches de conditions *in vivo*.

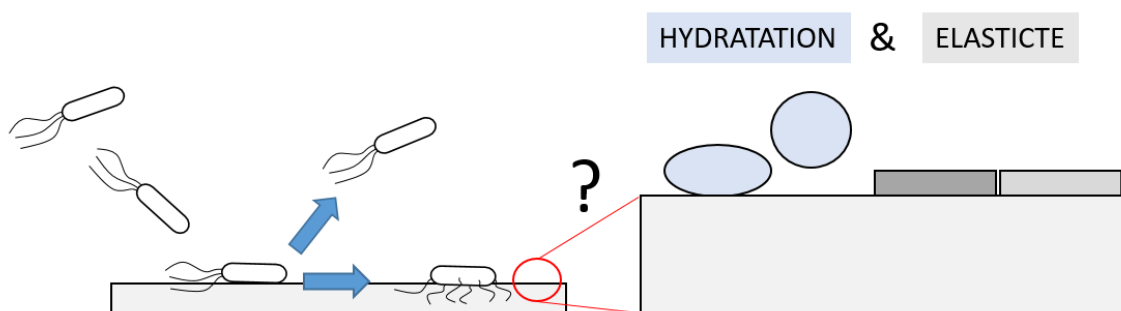


Figure 51 : Représentation d'une bactérie venant à la surface d'un matériau. L'influence de l'élasticité de surface ainsi que de l'hydratation sur l'adhésion bactérienne, mais également sur l'adhésion fongique, a été étudiée dans ces travaux de thèse. L'élasticité et l'hydratation de surface se révèlent être des paramètres clés pour le développement de biomatériaux aux propriétés antimicrobiennes sans l'ajout d'agent antimicrobien.





## Annexes

1. Liste des publications .....	204
2. Participation à des conférences internationales .....	204
3. Listes des modules d'enseignement .....	205
4. Liste des encadrements.....	205
5. Formation "Nouveau Chapitre de Thèse".....	205

## 1. Liste des publications

- Article principal de thèse pour soumission en Novembre 2021. Titre : « Limited diffusion and delayed biofilm formation by *Escherichia coli* on soft hydrated hyaluronic acid substrates »

Liste des auteurs : Annabelle Vigué, Dominique Vautier, Amad Kaytoue, Bernard Senger, Youri Arntz, Vincent Ball, Amine Ben Mlouka, Varvara Gribova, Samar Hajjar-Garreau, Julie Hardouin, Thierry Jouenne, Philippe Laval, Lydie Ploux.

- Article en cours de rédaction « How *Candida albicans* respond to surface stiffness on hydrated and non-hydrated materials? »
- Revue invitée dans Biomaterials Science (RSC), en cours de rédaction ; soumission novembre 2021. Titre : « Impact of the surface mechanical properties on bacterial adhesion »
- Revue en cours de rédaction “Mobility and motility of bacteria”

## 2. Participation à des conférences internationales

- Biofilms9, conférence en ligne initialement prévue à Karlsruhe (Allemagne) le 29/09/2020. Présentation d'un oral ; titre : « Soft coatings, a new antimicrobial strategy for biomaterials ? »

Liste des auteurs (orateur) : Annabelle Vigué, Dominique Vautier, Julie Hardouin, Youri Arntz, Vincent Ball, Thierry Jouenne, Bernard Senger, Lydie Ploux.

- ESB 2021, 31st Conference of the European Society for Biomaterials, conférence en ligne initialement prévue à Porto (Portugal) les 5-9/09/2021. Présentation d'un oral ; titre : « Advantages and limits of surface viscoelasticity as a drug-free strategy for the design of new antimicrobial biomaterials. »

Liste des auteurs (orateur) : Annabelle Vigué, Dominique Vautier, Julie Hardouin, Youri Arntz, Vincent Ball, Thierry Jouenne, Amine Ben Mlouka, Bernard Senger, Lydie Ploux.

- Termis, 6th world congress of the Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society, conférence en ligne initialement prévue à Maastricht (Pays-Bas) les 15-19/11/2021. Présentation d'un oral ; titre : « Stiff and soft coatings, as a potential new antimicrobial strategy for biomaterials. »

Liste des auteurs : Annabelle Vigué, Dominique Vautier, Julie Hardouin, Youri Arntz, Vincent Ball, Thierry Jouenne, Bernard Senger, Lydie Ploux.

### 3. Liste des modules d'enseignement

120 h de formations transversales & formations scientifiques, dont :

- Quantum simulation and quantum computing with atomic qubits
- Biosurf 2019
- Analyses protéomiques quantitatives
- Introduction à l'immunologie : méthodes et applications médicales

### 4. Liste des encadrements

- Encadrement de Mégane Sully, étudiante en dernière année d'école d'Ingénieur Biomédical, 3 mois.
- Encadrement d'Adrien Rousselle, étudiant en dernière année d'école d'Ingénieur Biomédical, 3 mois.
- Encadrement d'Amad Kaytoue, étudiant en M2 Biomatériaux pour la Santé, 6 mois.
- Mission d'enseignement en Faculté de Biologie (L1) : encadrement de TD d'histologie et de cytologie, 1 an.

### 5. Formation « Nouveau Chapitre de Thèse »

## **Programme de Valorisation des Compétences**

### **Formation Nouveau Chapitre de Thèse**

Suivie par **Annabelle VIGUÉ**

Dispensée par **Anna DYNGOSZ**

**Février - Juin 2021**

Intitulé académique : **Effet des propriétés mécaniques sur l'adhésion de microorganismes : comportement et réponse biologique d'*Escherichia coli* et de *Candida albicans* sur des biomatériaux hydratés et non hydratés de différentes élasticités**

**Les bactéries et les levures se plaisent-elles sur des surfaces molles et hydratées ?**



## 1. Objectifs de la formation Nouveau Chapitre de Thèse (NCT)

Cette formation a pour buts de préparer activement l'après thèse et d'optimiser la réussite de la transition professionnelle.

Lors de cette formation, le-la doctorant-e cherche à valoriser son parcours du doctorat comme une première expérience professionnelle de conduite de projet :

- Identifier, nommer, illustrer et valoriser l'ensemble des compétences développées au cours du doctorat, y compris les compétences transversales ;
- Analyser sa thèse dans une optique de projet professionnel, savoir présenter son projet de recherche en langage non académique ;
- Clarifier, préciser, élargir les perspectives/évolutions professionnelles envisagées ainsi que les plans d'actions ;
- Aborder les futurs entretiens d'embauche avec confiance.

Pour cela, le-la doctorant-e est accompagné-e dans sa démarche par un mentor, consultant, extérieur au système académique de la recherche ayant une très bonne connaissance des entreprises et des organisations, des pratiques de recrutement.

L'accompagnement est mi-individuel/personnalisé et mi-collectif et est réparti sur une période allant de février à juin 2021. Il comporte du travail personnel, du travail en groupe de l'ordre de 4 à 5 demi-journées, des entretiens individuels de face à face, et des échanges par email et téléphone.



## 2. Cadre général et enjeux de la thèse

### 2.1. Présentation succincte du sujet de thèse

Les infections nosocomiales, ou « infections liées aux soins », représentent une grande part des infections médicales. En effet, il est évalué qu'environ un patient hospitalisé sur vingt y a été confronté en France en 2017 (Santé Publique France). Le ministère de la Santé estime que les infections nosocomiales sont responsables de 4 000 décès chaque année en France. Etant donné qu'une grande partie des infections nosocomiales sont dues à des bactéries, le traitement de choix est le recours aux antibiotiques. Malheureusement, les bactéries soumises à ces traitements de manière répétée développent des mécanismes pour y résister (phénomène d'antibio-résistance) : mutation de gènes, sécrétions de composés inactivant les antibiotiques... Ainsi, ces infections deviennent de plus en plus difficiles à éradiquer et nécessitent la mise au point de nouveaux traitements efficaces.

La plupart des recherches vise à mettre au point de nouveaux antibiotiques, et de façon globale, les scientifiques travaillent encore et plus que jamais à trouver de nouveaux moyens de prévenir et de guérir ces infections. Et c'est justement le mot « prévenir » ici qui nous intéresse particulièrement dans le cadre de cette thèse. Typiquement, les méthodes de lutte contre ces maladies peuvent être divisées en deux grandes parties : les méthodes curatives (comme les antibiotiques) et les méthodes préventives. Ces dernières cherchent à limiter initialement les microorganismes de venir sur la surface du matériau, pour limiter ensuite leur développement et par conséquent diminuer les risques d'infection.

Récemment, une nouvelle méthode préventive a été proposée : celle-ci repose sur le design des propriétés mécaniques intrinsèques du matériau sur lequel les microorganismes pourraient venir s'adhérer. L'élasticité du matériau semble être un paramètre prometteur pour limiter l'adhésion de microorganismes.

L'objectif de cette thèse est de répondre au besoin de mieux connaître le rôle joué par l'élasticité de surface dans l'infection de biomatériaux. Ces recherches fondamentales ont pour but de mieux comprendre le comportement des microorganismes adhérents sur des surfaces à élasticités variables, pour ensuite pouvoir cibler des matériaux avec une certaine élasticité sur lesquels les microorganismes présenteraient une mauvaise adhésion et/ou serait plus facilement éliminés. Cela permettrait de développer de nouveaux matériaux avec des propriétés mécaniques spécifiques pour des dispositifs médicaux, pour *in fine* limiter, par exemple, les infections microbiennes de prothèses ou de cathéters et de répondre ainsi à un problème de santé publique majeur.

Ce sujet de thèse présente des enjeux scientifiques et économiques. En effet, ces travaux cherchent à approfondir les connaissances sur les microorganismes provoquant des infections très largement rencontrées dans le monde hospitalier. Ces recherches pourraient ensuite servir par exemple au développement de nouveaux matériaux de dispositifs médicaux aux propriétés mécaniques contrôlées limitant leur infection. Dans le milieu médical, les enjeux sont de diminuer les infections, et par conséquent également de diminuer les coûts d'hospitalisation (chaque jour d'hospitalisation dans des services de médecine « classique » coûte environ 1500€), et de réduire le nombre de décès liés à ces problématiques. Mais les retombées de ces recherches ne se restreignent pas qu'au domaine médical. En effet, d'autres domaines recherchent également activement des méthodes de limitation d'adhésion non désirées de microorganismes sur des surfaces, par exemple dans l'industrie navale ou encore en agroalimentaire, où le problème de *biofouling* est important.

## 2.2. La thèse dans son contexte

Cette thèse est réalisée au sein de l'INSERM UMR 1121 Biomateriaux et Bioingénierie. Globalement, la vocation du laboratoire est de développer de nouveaux concepts de biomatériaux en étudiant les aspects les plus fondamentaux jusqu'aux applications cliniques. Concrètement, l'unité s'intéresse aux biomatériaux au sens large du terme : développement de nouveaux biomatériaux aux concepts innovants, compréhension de l'interaction des cellules avec les biomatériaux, mise au point de nouveaux types d'implants, etc... Les problématiques abordées sont généralement issues de la clinique et nos approches sont pluridisciplinaires, faisant appel à des cliniciens, des biologistes et des physico-chimistes.

Mon projet de thèse fait partie des travaux dits « fondamentaux ». Il vise en effet à comprendre des réactions et des mécanismes cellulaires, ce qui est essentiel pour pouvoir ensuite porter et alimenter des projets plus appliqués.

Le début de cette thèse est corrélé avec l'arrivée de ma directrice de thèse au laboratoire, Dr Lydie Ploux. Ses activités sont principalement liées à la microbiologie et à l'étude de l'interaction microorganismes-surfaces. Ces thématiques phénoménologiques et mécanistiques de microorganismes n'étaient jusqu'alors peu voire pas abordées au sein du laboratoire. Nos arrivées concomitantes, du Dr Lydie Ploux et de moi-même, ont donc permis d'ouvrir de nouvelles voix de recherche au laboratoire.

Mon sujet de thèse fait appel à des compétences scientifiques pluridisciplinaires : biologie, microbiologie, génétique, physique, et chimie. Les expérimentations réalisées demandent une expertise technique dans plusieurs domaines, tels que la protéomique, la génomique ou encore les

mesures des propriétés mécaniques ; des collaborations avec des laboratoires français et internationaux spécialisés dans ces domaines ont été mises en place. Ce projet fait appel aux compétences scientifiques de quatre laboratoires différents, et environ une quinzaine de personnes (stagiaires, doctorant, techniciens, ingénieurs et chercheurs) travaillent ou ont travaillé activement dessus.

Dans le monde scientifique, la question de l'influence des propriétés mécaniques est récente. Une poignée de publications parlent de l'influence de l'élasticité du substrat sur l'adhésion des microorganismes, et aucun ne cherche de façon approfondie les mécanismes sous-jacents. Il y a donc un réel besoin concernant cette problématique.

### 2.3. Ma place dans ce contexte

Après mon diplôme d'ingénieur biomédical, mon inclination pour le domaine de la recherche était fort. J'avais en effet lors de mon cursus d'ingénieur eu l'occasion de réaliser trois stages dans le domaine de la recherche (deux stages dans des laboratoires publics, et un troisième stage dans le secteur privé) qui m'ont fortement intéressée. J'avais envie d'apprendre de façon plus poussée un sujet et de développer ma vision internationale dans un domaine d'expertise. En effet, une thèse équivaut à 3 ans pour repousser les barrières de la connaissance, trouver des solutions innovantes à des problèmes nouveaux qui seront posés par différents acteurs et ce dans un environnement professionnel (car je suis à la fois étudiante et salariée). Faire une thèse, c'était pour moi l'occasion d'acquérir une capacité de s'élancer dans l'inconnu, d'explorer des hypothèses et essayer de trouver des solutions. En plus de ces points abordés, et étant donné que je souhaiterais m'exporter à l'étranger après ma thèse, faire un doctorat m'intéressait particulièrement pour la reconnaissance de ce diplôme au niveau international.

Mon rôle dans la définition du projet a été moindre dans son lancement. En effet, j'ai initialement répondu à un appel à candidature, avec des questions et des protocoles scientifiques qui étaient relativement bien définis. Cependant, la mise en place des expérimentations qui d'ordinaire se réalisaient de façon routinière avec ma directrice de thèse ont dû être réadaptées dans ce nouveau laboratoire. Une phase de tests a été mise en place, pour ensuite lancer le projet. Par la suite, le projet ne s'est pas déroulé de façon linéaire : mes recherches étaient orientées vers les directions les plus prometteuses en fonction des résultats de mes expérimentations précédentes.



## 3. Déroulement, gestion et cout estime du projet

### 3.1. Préparation et cadrage du projet

Le projet a été lancé avec des financements internes au laboratoire, et les travaux ont été en quasi-totalité réalisés au sein de notre laboratoire INSERM U1121. Certains aspects scientifiques ont été abordés par des spécialistes du domaine ; des collaborations nationales et internationales ont été progressivement mises en place tout au long du déroulement du projet en fonction des besoins.

### 3.2. Conduite du projet

La conception de ce projet a été réalisée par mes directeurs de thèse ; ils ont identifié les objectifs principaux de la thèse, qui ont évolué en fonction des résultats de ces trois dernières années. De façon hebdomadaire, mes directeurs de thèse et moi-même nous rencontrons pour parler des avancées du projet, des dernières expérimentations, des éventuels problèmes et de leurs solutions, des pistes à

envisager et/ou des réorientations potentielles. Ces réunions sont également un moment pour discuter de l'échéancier si besoin.

Pour mieux appréhender certains aspects du projet, j'ai suivi des formations en interne ou en externe (formations à la culture microbiologique, à l'hygiène et sécurité en laboratoire, à la microscopie, aux techniques de production et de caractérisations des biomatériaux, aux analyses statistiques, à des logiciels de traitement d'images, etc...). Etant donné que les travaux de thèse sont réalisés en quasi-totalité par moi-même, piloter ce projet me demande une méthodologie rigoureuse pour maîtriser les délais et la qualité des recherches effectuées. En effet, je suis responsable de son bon déroulement, de la génération de données à leur valorisation. Brièvement, je suis responsable de la mise en place de nouveaux protocoles (après concertation avec mes supérieurs), des expérimentations à la paillasse, qu'elles soient biologiques ou physico-chimiques, du traitement des données ainsi que de leur interprétation et de leur valorisation passant notamment par la rédaction d'articles scientifiques à visée internationale. Ma thèse demande également d'avoir une autonomie sur l'utilisation de machines complexes (microscopes, machines pour mesure de propriétés mécaniques, etc...), et sur des logiciels de traitement d'images.

Pendant ma thèse, je gère aussi des relations avec des partenaires scientifiques avec qui j'ai mis en place des collaborations, à savoir une équipe de protéomique à Rouen, une équipe de mécanique appliquée à Besançon et une (en cours) avec une équipe de génomique à Hokkaido au Japon. En plus de la mise en place et de l'entretien de ces collaborations, mes compétences relationnelles sont également requises pour l'encadrement de stagiaires, la préparation d'expériences en concert avec d'autres chercheurs et techniciens de l'équipe, et pour des discussions avec des entreprises privées.

Certains problèmes ont été rencontrés au cours de ma thèse. Premièrement, l'épaisseur des échantillons utilisés a posé problème pour leur observation par microscopie. En effet, le matériel déjà présent au laboratoire n'était pas adapté et l'acquisition de nouveau matériel, en l'occurrence un objectif de microscope avec des caractéristiques spécifiques, a donc été nécessaire. Les délais pour recevoir le matériel approprié pour poursuivre les expérimentations ont induits une réorganisation des échéanciers. Deuxièmement, le confinement du printemps 2020 lié à la crise sanitaire de la Covid19 a impacté de façon significative l'avancée de mes travaux de thèse. En effet, mes travaux reposent quasi exclusivement sur des expériences microbiologiques, qui ont été interrompues pendant cette période, et un temps de reprise de ces cultures a été nécessaire après le confinement pour pouvoir redémarrer les expérimentations. Ce « temps-mort expérimental » a toutefois été productif : j'ai profité de ce temps pour traiter et interpréter mes données déjà générées, et de faire des recherches bibliographiques et un travail d'écriture pour ma première revue scientifique. Une demande de prolongation de thèse a été en parallèle demandée au Ministère de l'enseignement supérieur.

### 3.3. Estimation et prise en charge du coût du projet

En prenant en compte les différents éléments :

- Ressources humaines : moyens en personnel (nombre de personnes internes –y compris moi-même - et externes affectées au projet), temps passé, catégories (stagiaires, techniciens, autres), salaires et coûts, y compris les charges sociales ;
- Dépenses associées au projet : matériels et prestations internes et externes mis à disposition ou achetés (amortissement), déplacements, consommables, coûts d'infrastructures (services communs, loyers des locaux, frais de fonctionnement), frais de formation ;

une estimation du coût total de ce projet sur ces trois années est d'environ 400 k€.



## 4. Compétences, savoir-faire, qualités professionnelles et personnelles

Mener à bien mon projet de thèse m'a permis de développer de nombreuses compétences et de savoir-faire, qui sont transférables en dehors de mon domaine de recherche.

Tout d'abord, une des premières compétences que j'ai acquises lors de ma thèse est d'apprendre à gérer un projet sur trois années. J'ai appris à gérer un budget pour pouvoir réaliser mes expérimentations en planifiant des calendriers et leur coût de mise en place.

Ensuite, pendant mes travaux, j'ai renforcé ma capacité à travailler sur des projets pluridisciplinaires. En effet, mon sujet, au carrefour de la biologie et de la chimie-physique, demande une maîtrise approfondie de la transdisciplinarité. Il m'a donc été indispensable d'acquérir une efficacité accrue dans l'appropriation et dans l'articulation de différentes thématiques abordées dans mon sujet de thèse. Aborder ces multiples thématiques m'a permis de développer des compétences et des méthodes nombreuses et de les réinvestir très fréquemment ; cela demande une forte adaptabilité et favorise par ailleurs la créativité.

De plus, piloter ce projet m'a encouragé à adopter constamment un regard neuf. En effet, face à certains résultats, de nouvelles questions scientifiques ont été soulevées, et il a été essentiel d'adopter une vision critique sur nos propres résultats et d'avoir une capacité de distanciation en interrogeant l'existant.

En outre, la façon dont le projet était géré de concert avec mes directeurs de thèse m'a permis de bénéficier d'un espace de liberté de d'initiative, et d'orienter mes recherches vers les directions les plus prometteuses en termes de retombées scientifiques. Il a également fallu que je sois capable de trouver rapidement des solutions à des problèmes rencontrés (cf partie 2.2 Conduite de projet).

Par ailleurs, j'ai acquis une vision internationale dans mon domaine d'expertise, notamment en effectuant des recherches bibliographiques avancées, en participant à des conférences internationales et en y présentant mes travaux, ainsi qu'en créant des collaborations internationales (Japon). Lors de mes participations à des congrès à l'étranger, mes compétences en communication ont été fortement sollicitées, notamment pour intéresser, convaincre et interagir avec aussi bien des personnes novices qu'avec des experts dans le domaine. Ces congrès ont été pour moi l'occasion d'enrichir mon réseau professionnel. Par ailleurs, les congrès, ainsi que la rédaction d'articles scientifiques, demandent une capacité à savoir prouver que les travaux effectués sont novateurs ; ils demandent par ailleurs une maîtrise linguistique anglaise fine.

Comme écrit précédemment, je réalise la quasi-totalité des travaux en autonomie, ce qui me demande une méthodologie rigoureuse pour maîtriser les délais et la qualité des recherches effectuées. De fortes compétences relationnelles sont également requises pour mettre en place de nouvelles collaborations et pour les entretenir, mais également pour travailler avec les différents membres de l'équipe, pour encadrer des stagiaires, et pour interagir avec des entreprises privées. Pour animer les réunions avec ces différents partis, mes qualités d'encadrement et d'animation ont été requises.

De plus, cette première expérience professionnelle m'a initiée aux démarches administratives nécessaires au déroulement du projet (demande de devis, suivi de commandes, création de nouveaux fournisseurs, etc...).





## 5. Résultats, impact de la thèse

Les résultats obtenus au cours de ces trois dernières années sont probants. Les applications médicales découlant de ces recherches sont nombreuses. Par exemple, cela pourrait servir au développement de nouveaux matériaux de dispositifs médicaux aux propriétés mécaniques contrôlées limitant leur infection. Dans cet optique, cela pourrait impacter le secteur médical, avec par exemple une diminution des coûts d'hospitalisation, une augmentation de la qualité de vie des patients, ainsi que d'une réduction du nombre de décès liés à ces problématiques.

Les retombées de ces recherches pourraient s'étendre à d'autres domaines également intéressés à limiter l'adhésion de microorganismes sur des surfaces, comme par exemple dans l'industrie navale ou encore en agroalimentaire, où le problème de *biofouling* est important.

De façon plus « locale », avec les résultats de mes travaux de recherche, nous sommes en cours de rédaction d'un article scientifique que nous souhaitons soumettre à *Biomaterials*, une revue à haut facteur d'impact. Un second article concernant l'influence des propriétés mécaniques sur l'adhésion fongique est en cours de rédaction. Une revue invitée à *Biomaterials Science*, ainsi qu'une mini-revue sur la mobilité bactérienne sont également en cours de rédaction.

A titre personnel, la thèse a été un moment d'une très grande richesse, aussi bien professionnelle que personnelle, et m'a confortée dans l'idée que mes pas suivront les chemins où je pourrais être actrice pour le développement de la santé des Hommes.



## 6. Identifications de pistes professionnelles

Les pistes professionnelles envisagées pour mon après-thèse ont évolué très significativement depuis le début de cette formation Nouveau Chapitre de Thèse. Hormis celles dans le domaine académique, ces pistes peuvent se regrouper en 5 catégories, qui sont présentées ci-dessous. Globalement, je souhaiterais trouver un poste lié à la R&D, à l'innovation, dans le domaine médical, et si possible m'exporter à l'étranger.

1. **Poste de chef de projet junior dans une entreprise du Dispositif Médical (DM).** Typiquement, je souhaiterais coordonner et manager des activités de recherche et de développement dans le secteur du DM, secteur qui me tient particulièrement à cœur, dans lequel j'ai réalisé mes études supérieures, et dans lequel je souhaiterais continuer ma carrière. J'ai acquis une expertise dans le domaine du biomédical via mon enseignement en école d'ingénieur biomédical, et mon doctorat m'a appris à gérer un projet de recherche dans ses aspects scientifiques, organisationnels, administratifs et financiers.
2. **Poste de Principal Scientifique dans un groupe pharmaceutique.** Cette piste professionnelle m'a été proposée lors de mon entretien professionnel réalisé dans le cadre de cette formation avec Céline Marband, Principal Scientifique chez Roche à Bâle. Les compétences demandées pour ce poste sont similaires à celles exposées dans le point précédent. Lors de cet entretien, en plus des dimensions de gestion de projet, j'ai particulièrement été attirée par la dimension d'encadrement (non seulement de stagiaires, mais également de doctorants et de post-doctorants) que je souhaiterais poursuivre. Bien que le domaine pharmaceutique ne soit pas mon domaine de formation, les mondes du dispositif médical et du médicament se

ressemblent par de nombreux aspects. Etant spécialiste du domaine biomédical, cela en fait une garantie de mon adaptation rapide dans ce nouveau domaine. Le challenge sociétal du monde pharmaceutique, comme par exemple la lutte contre les maladies mondialement connues, font que les innovations pharmaceutiques contribuent incontestablement à l'amélioration des conditions de vie. Ce constat est le même pour le monde du DM, et constitue un point clé dans ma volonté à m'engagement dans ces domaines.

3. **Responsable de recherche dans les produits cosmétiques à visée médicale.** Toujours dans les domaines de la recherche et de l'innovation, je souhaiterais également postuler pour des postes pour des produits cosmétiques à visée médicale. En effet, le groupe l'Oréal propose des produits cosmétiques développés dans la branche « Active Cosmetics » qui ont pour vocation d'allier la santé à la beauté, comme par exemples des produits contre les sécheresses cutanées ou des produits traitant les problèmes d'acné. J'apprécie particulièrement l'idée de pouvoir combiner l'aspect pratique à l'aspect esthétique, et souhaite pour cela candidater dans ces branche « Active Cosmetics ». Par ailleurs, la branche Active Cosmetics fait appel à des compétences du domaine de la microbiologie, domaine dans lequel j'ai acquis une expertise.
4. **Ingénieur dans l'équipe Santé de l'Agence Spatiale Européenne (ESA).** Je souhaiterais poser une candidature à l'ESA en tant qu'Ingénieur Santé. En effet, la thématique du spatial me passionne tout particulièrement. Cet intérêt pour cette matière trouve son origine dans ma curiosité et mon envie de comprendre et de voyager entre les mondes de l'infiniment petit et de l'immensément grand, et d'en étudier les comportements. Dans cette optique, j'aime particulièrement étudier les micro-organismes ainsi que suivre les cours d'astrophysique et les dernières actualités spatiales (comme la nouvelle mission de Thomas Pasquet sur l'ISS). Ma candidature en tant qu'Ingénieur Santé correspond entièrement à mes compétences d'Ingénieur Biomédical avec une expertise dans la recherche médicale.
5. **Journaliste vulgarisation scientifique.** Pendant mon cursus de thèse, j'ai particulièrement aimé réaliser ma mission d'enseignement (dispense de cours magistraux, de TP et de TD), et participer à des conférences et à des congrès pour partager mes connaissances. Mes compétences en communication ont été fortement sollicitées, notamment pour intéresser, vulgariser, convaincre et interagir avec aussi bien des personnes novices qu'avec des experts dans le domaine. Par ailleurs, pendant mes travaux, j'ai renforcé ma capacité à travailler sur des projets pluridisciplinaires. En effet, mon sujet, au carrefour de la biologie et de la chimie-physique, demande une maîtrise approfondie de la transdisciplinarité. Il m'a donc été indispensable d'acquérir une efficacité accrue dans l'appropriation et dans l'articulation de différentes thématiques abordées dans mon sujet de thèse. C'est pour ces raisons exposées que je m'intéresse au journalisme de vulgarisation scientifique.

## Références

- Abatangelo, G., V. Vindigni, G. Avruscio, L. Pandis, et P. Brun. 2020. « Hyaluronic Acid: Redefining Its Role ». *Cells* 9 (7): E1743. <https://doi.org/10.3390/cells9071743>.
- Abebe, Gedif Meseret. 2020. « The Role of Bacterial Biofilm in Antibiotic Resistance and Food Contamination ». *International Journal of Microbiology* 2020 (août): 1-10. <https://doi.org/10.1155/2020/1705814>.
- Acar, J., et G. Moulin. 2012. « Antimicrobial Resistance: A Complex Issue: -EN--FR- L'antibiorésistance: Une Question Complexe -ES- La Resistencia a Los Agentes Antimicrobianos, Un Tema Complejo ». *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* 31 (1): 23-31. <https://doi.org/10.20506/rst.31.1.2098>.
- Adcox, Haley E., Erin M. Vasicek, Varun Dwivedi, Ky V. Hoang, Joanne Turner, et John S. Gunn. 2016. « Salmonella Extracellular Matrix Components Influence Biofilm Formation and Gallbladder Colonization ». *Infection and Immunity* 84 (11): 3243-51. <https://doi.org/10.1128/IAI.00532-16>.
- Adetutu, Eric M., Krystal Thorpe, Steven Bourne, Xiangsheng Cao, Esmaeil Shahsavari, Greg Kirby, et Andrew S. Ball. 2011. « Phylogenetic Diversity of Fungal Communities in Areas Accessible and Not Accessible to Tourists in Naracoorte Caves ». *Mycologia* 103 (5): 959-68. <https://doi.org/10.3852/10-256>.
- Ahmad, I. A. 2009. « Rubber Dam Usage for Endodontic Treatment: A Review ». *International Endodontic Journal* 42 (11): 963-72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2009.01623.x>.
- Ahmer, Brian M. M. 2004. « Cell-to-Cell Signalling in Escherichia Coli and Salmonella Enterica ». *Molecular Microbiology* 52 (4): 933-45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04054.x>.
- Alalwan, Hasanain, Christopher J. Nile, Ranjith Rajendran, Robert McKerlie, Paul Reynolds, Nikolaj Gadegaard, et Gordon Ramage. 2018. « Nanoimprinting of Biomedical Polymers Reduces Candidal Physical Adhesion ». *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 14 (3): 1045-49. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2018.01.011>.
- Albuquerque, Patrícia, et Arturo Casadevall. 2012. « Quorum Sensing in Fungi--a Review ». *Medical Mycology* 50 (4): 337-45. <https://doi.org/10.3109/13693786.2011.652201>.
- Alem, Mohammed A. S., Mohammed D. Y. Oteef, T. Hugh Flowers, et L. Julia Douglas. 2006. « Production of Tyrosol by Candida albicans Biofilms and Its Role in Quorum Sensing and Biofilm Development ». *Eukaryotic Cell* 5 (10): 1770-79. <https://doi.org/10.1128/EC.00219-06>.
- Al-Fattani, Mohammed A., et L. J. Douglas. 2006. « Biofilm matrix of Candida albicans and Candida tropicalis: chemical composition and role in drug resistance. » *Journal of medical microbiology*. <https://doi.org/10.1099/JMM.0.46569-0>.
- Al-Fattani, Mohammed A., et L. Julia Douglas. 2004. « Penetration of Candida Biofilms by Antifungal Agents ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (9): 3291-97. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.9.3291-3297.2004>.
- Allesen-Holm, Marie, Kim Bundvig Barken, Liang Yang, Mikkel Klausen, Jeremy S. Webb, Staffan Kjelleberg, Søren Molin, Michael Givskov, et Tim Tolker-Nielsen. 2006. « A Characterization of DNA Release in Pseudomonas Aeruginosa Cultures and Biofilms ». *Molecular Microbiology* 59 (4): 1114-28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2005.05008.x>.
- Alonso, Lise, Thomas Pommier, Bernard Kaufmann, Audrey Dubost, David Chapulliot, Jeanne Doré, Christophe J. Douady, et Yvan Moëgne-Loccoz. 2019. « Anthropization Level of Lascaux Cave Microbiome Shown by Regional-scale Comparisons of Pristine and Anthropized Caves ». *Molecular Ecology*, juillet, mec.15144. <https://doi.org/10.1111/mec.15144>.
- Amarnath, Leena Pravina, Arvind Srinivas, et Anand Ramamurthi. 2006. « In Vitro Hemocompatibility Testing of UV-Modified Hyaluronan Hydrogels ». *Biomaterials* 27 (8): 1416-24. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.08.008>.

- An, Y. H., et R. J. Friedman. 1998. « Concise Review of Mechanisms of Bacterial Adhesion to Biomaterial Surfaces ». *Journal of Biomedical Materials Research* 43 (3): 338-48. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(199823\)43:3<338::aid-jbm16>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(199823)43:3<338::aid-jbm16>3.0.co;2-b).
- An, Yuehwei H, et Richard J Friedman. 1997. « Laboratory Methods for Studies of Bacterial Adhesion ». *Journal of Microbiological Methods* 30 (2): 141-52. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(97\)00058-4](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(97)00058-4).
- Angelova, Angelina G., Gregory A. Ellis, Hemantha W. Wijesekera, et Gary J. Vora. 2019. « Microbial Composition and Variability of Natural Marine Planktonic and Biofouling Communities From the Bay of Bengal ». *Frontiers in Microbiology* 10 (décembre): 2738. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02738>.
- Anselme, K., P. Davidson, A.M. Popa, M. Giazon, M. Liley, et L. Ploux. 2010. « The Interaction of Cells and Bacteria with Surfaces Structured at the Nanometre Scale ». *Acta Biomaterialia* 6 (10): 3824-46. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.04.001>.
- Arendrup, Maiken Cavling, et Thomas F. Patterson. 2017. « Multidrug-Resistant Candida: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment ». *The Journal of Infectious Diseases* 216 (suppl\_3): S445-51. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix131>.
- Armitage, J. P. 1992. « Bacterial Motility and Chemotaxis ». *Science Progress* 76 (301-302 Pt 3-4): 451-77.
- Ascencio, M., P. Collinet, M. Cosson, et S. Mordon. 2008. « Place et intérêt de la microscopie confocale en gynécologie ». *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 37 (1): 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2007.09.003>.
- Ashraf, Muhammad Salman, et Paul P. Cook. 2016. « Antibiotic Misuse in Hospital, Outpatient, and Long-Term Care Settings ». *North Carolina Medical Journal* 77 (5): 346-49. <https://doi.org/10.18043/ncm.77.5.346>.
- Attenello, Natalie Huang, et Corey S. Maas. 2015. « Injectable Fillers: Review of Material and Properties ». *Facial Plastic Surgery: FPS* 31 (1): 29-34. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1544924>.
- B**acci, D. 1993. « Polypropylene Serving the Medical Sector ». *Medical Device Technology* 4 (5): 18-21.
- Bagert, John D., Julia C. van Kessel, Michael J. Sweredoski, Lihui Feng, Sonja Hess, Bonnie L. Bassler, et David A. Tirrell. 2016. « Time-Resolved Proteomic Analysis of Quorum Sensing in *Vibrio Harveyi* ». *Chemical Science* 7 (3): 1797-1806. <https://doi.org/10.1039/C5SC03340C>.
- Bakker, Dewi P., Henk J. Busscher, Joyce van Zanten, Joop de Vries, Job W. Klijnstra, et Henny C. van der Mei. 2004. « Multiple Linear Regression Analysis of Bacterial Deposition to Polyurethane Coatings after Conditioning Film Formation in the Marine Environment ». *Microbiology (Reading, England)* 150 (Pt 6): 1779-84. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26983-0>.
- Bakker, Dewi P, Frank M Huijs, Joop de Vries, Job W Klijnstra, Henk J Busscher, et Henny C van der Mei. 2003. « Bacterial Deposition to Fluoridated and Non-Fluoridated Polyurethane Coatings with Different Elastic Modulus and Surface Tension in a Parallel Plate and a Stagnation Point Flow Chamber ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 32 (3): 179-90. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(03\)00159-0](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(03)00159-0).
- Balestrino, Damien, Janus A. J. Haagensen, Chantal Rich, et Christiane Forestier. 2005. « Characterization of Type 2 Quorum Sensing in *Klebsiella Pneumoniae* and Relationship with Biofilm Formation ». *Journal of Bacteriology* 187 (8): 2870-80. <https://doi.org/10.1128/JB.187.8.2870-2880.2005>.
- Bandara, Chaturanga D., Sanjleena Singh, Isaac O. Afara, Annalena Wolff, Tuquabo Tesfamichael, Kostya Ostrikov, et Adekunle Oloyede. 2017. « Bactericidal Effects of Natural Nanotopography of Dragonfly Wing on *Escherichia coli* ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 9 (8): 6746-60. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b13666>.
- Barnhart, Michelle M., et Matthew R. Chapman. 2006. « Curli Biogenesis and Function ». *Annual Review of Microbiology* 60 (1): 131-47. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.60.080805.142106>.

- Barthlott, W., et C. Neinhuis. 1997. « Purity of the Sacred Lotus, or Escape from Contamination in Biological Surfaces ». *Planta* 202 (1): 1-8. <https://doi.org/10.1007/s004250050096>.
- Barton, Hazel A. 2006. « Introduction to Cave Microbiology: A Review for the Non-Specialist », 12.
- Bassetti, Matteo, Alessia Carnelutti, Nadia Castaldo, et Maddalena Peghin. 2019. « Important New Therapies for Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus ». *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 20 (18): 2317-34. <https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1675637>.
- Bathala, Lakshmana, Vaishnavi Majeti, Narendra Rachuri, Nibha Singh, et Sirisha Gedela. 2019. « The Role of Polyether Ether Ketone (Peek) in Dentistry - A Review ». *Journal of Medicine and Life* 12 (1): 5-9. <https://doi.org/10.25122/jml-2019-0003>.
- Bazaka, K., M. V. Jaco, W. Chrzanowski, et K. Ostrikov. 2015. « Anti-bacterial surfaces: natural agents, mechanisms of action, and plasma surface modification ». *RSC Advances* 60. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/ra/c4ra17244b>.
- Beamson, G, et D Briggs. 1993. « High resolution XPS of organic polymers: the scienta esca300 data ».
- Beauvais, Anne, Christine Schmidt, Stéphanie Guadagnini, Pascal Roux, Emmanuelle Perret, Christine Henry, Sophie Paris, Adeline Mallet, Marie-Christine Prévost, et Jean Paul Latgé. 2007. « An Extracellular Matrix Glues Together the Aerial-Grown Hyphae of Aspergillus Fumigatus ». *Cellular Microbiology* 9 (6): 1588-1600. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2007.00895.x>.
- Beech, Iwona B., Jan A. Sunner, et Kenzo Hiraoka. 2005. « Microbe-Surface Interactions in Biofouling and Biocorrosion Processes ». *International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology* 8 (3): 157-68.
- Beer, D. de, P. Stoodley, F. Roe, et Z. Lewandowski. 1994. « Effects of Biofilm Structures on Oxygen Distribution and Mass Transport ». *Biotechnology and Bioengineering* 43 (11): 1131-38. <https://doi.org/10.1002/bit.260431118>.
- Bergeron, V., P. Cooper, C. Fischer, J. Giermanska-Kahn, D. Langevin, et A. Pouchelon. 1997. « Polydimethylsiloxane (PDMS)-Based Antifoams ». *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 122 (1): 103-20. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(96\)03774-0](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(96)03774-0).
- Berman, Judith, et Peter E. Sudbery. 2002. « Candida Albicans: A Molecular Revolution Built on Lessons from Budding Yeast ». *Nature Reviews. Genetics* 3 (12): 918-30. <https://doi.org/10.1038/nrg948>.
- Berry, Jamie-Lee, et Vladimir Pelicic. 2015. « Exceptionally Widespread Nanomachines Composed of Type IV Pilins: The Prokaryotic Swiss Army Knives ». *FEMS Microbiology Reviews* 39 (1): 134-54. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu001>.
- Bharadwaz, Angshuman, et Ambalangodage C. Jayasuriya. 2020. « Recent Trends in the Application of Widely Used Natural and Synthetic Polymer Nanocomposites in Bone Tissue Regeneration ». *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications* 110 (mai): 110698. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110698>.
- Bhushan, Bharat, Yong Chae Jung, Adrian Niemietz, et Kerstin Koch. 2009. « Lotus-Like Biomimetic Hierarchical Structures Developed by the Self-Assembly of Tubular Plant Waxes ». *Langmuir* 25 (3): 1659-66. <https://doi.org/10.1021/la802491k>.
- Biancalana, Matthew, et Shohei Koide. 2010. « Molecular Mechanism of Thioflavin-T Binding to Amyloid Fibrils ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics* 1804 (7): 1405-12. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.04.001>.
- Bjarnsholt, Thomas. 2013. « The Role of Bacterial Biofilms in Chronic Infections ». *APMIS* 121 (s136): 1-58. <https://doi.org/10.1111/apm.12099>.
- Björklöf, K., E. L. Nurmiäho-Lassila, N. Klingner, K. Haahtela, et M. Romantschuk. 2000. « Colonization Strategies and Conjugal Gene Transfer of Inoculated Pseudomonas Syringae on the Leaf Surface ». *Journal of Applied Microbiology* 89 (3): 423-32. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01130.x>.
- Blankenship, Jill R, et Aaron P Mitchell. 2006. « How to Build a Biofilm: A Fungal Perspective ». *Current Opinion in Microbiology, Growth and development*, 9 (6): 588-94. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.10.003>.

- Bloecher, Nina, Yngvar Olsen, et Jana Guenther. 2013. « Variability of Biofouling Communities on Fish Cage Nets: A 1-Year Field Study at a Norwegian Salmon Farm ». *Aquaculture* 416-417 (décembre): 302-9. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.025>.
- Boks, Niels P., Hans J. Kaper, Willem Norde, Henny C. van der Mei, et Henk J. Busscher. 2009. « Mobile and immobile adhesion of staphylococcal strains to hydrophilic and hydrophobic surfaces ». *Journal of Colloid and Interface Science* 331 (1): 60-64. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.11.025>.
- Bollen, C. M., W. Papaioanno, J. Van Eldere, E. Schepers, M. Quirynen, et D. van Steenberghe. 1996. « The Influence of Abutment Surface Roughness on Plaque Accumulation and Peri-Implant Mucositis ». *Clinical Oral Implants Research* 7 (3): 201-11. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.1996.070302.x>.
- Bordado, J. C. M. 2014. « Environmental friendly antifouling technology to optimise the energy efficiency of ships, Project final report FOUL-X-SPEL ». 2014. <https://cordis.europa.eu/docs/results/285/285552/final1-foul-x-spel-final-report.pdf>.
- Borriello, Giorgia, Erin Werner, Frank Roe, Aana M. Kim, Garth D. Ehrlich, et Philip S. Stewart. 2004. « Oxygen Limitation Contributes to Antibiotic Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in Biofilms ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 (7): 2659-64. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.7.2659-2664.2004>.
- Briggs, D. 1998. *Surface Analysis of Polymers by XPS and Static SIMS*. Cambridge, U.K. ; New York: Cambridge University Press.
- Brisset, L., V. Vernet-Garnier, J. Carquin, A. Burde, J. B. Flament, et C. Choisy. 1996. « [In vivo and in vitro analysis of the ability of urinary catheter to microbial colonization] ». *Pathologie-Biologie* 44 (5): 397-404.
- Brown, A. J., et N. A. Gow. 1999. « Regulatory Networks Controlling *Candida Albicans* Morphogenesis ». *Trends in Microbiology* 7 (8): 333-38. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(99\)01556-5](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(99)01556-5).
- Brown, M. R., D. G. Allison, et P. Gilbert. 1988. « Resistance of Bacterial Biofilms to Antibiotics: A Growth-Rate Related Effect? » *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 22 (6): 777-80. <https://doi.org/10.1093/jac/22.6.777>.
- Bryers, James D. 2008. « Medical biofilms ». *Biotechnology and Bioengineering*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bit.21838>.
- Büttner, Henning, Dietrich Mack, et Holger Rohde. 2015. « Structural Basis of *Staphylococcus Epidermidis* Biofilm Formation: Mechanisms and Molecular Interactions ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 5 (février). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00014>.
- C**ado, G., R. Aslam, L. Séon, T. Garnier, R. Fabre, A. Parat, A. Chassepot, et al. 2013. « Self-Defensive Biomaterial Coating Against Bacteria and Yeasts: Polysaccharide Multilayer Film with Embedded Antimicrobial Peptide ». *Advanced Functional Materials*, avril, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/adfm.201300416>.
- Cady, N. C., J. L. Behnke, et A. D. Strickland. 2011. « Copper-Based Nanostructured Coatings on Natural Cellulose: Nanocomposites Exhibiting Rapid and Efficient Inhibition of a Multi-Drug Resistant Wound Pathogen, *A. baumannii*, and Mammalian Cell Biocompatibility In Vitro ». *Advanced Functional Materials* 21 (13): 2506-14.
- Cai, Rui, Gang Tao, Huawei He, Kai Song, Hua Zuo, Wenchao Jiang, et Yejing Wang. 2017. « One-Step Synthesis of Silver Nanoparticles on Polydopamine-Coated Sericin/Polyvinyl Alcohol Composite Films for Potential Antimicrobial Applications ». *Molecules* 22 (5): 721. <https://doi.org/10.3390/molecules22050721>.
- Calderone, R.A., et C.J. Clancy. 2012. *Candida and candidiasis*. Washington, DC: ASM Press. <http://proxy.insermbiblio.inist.fr/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,url,uid&db=edshlc&AN=edshlc.013189775.6&lang=fr&site=eds-live>.
- Carabello, Blase A., et Fred A. Crawford. 1997. « Valvular Heart Disease ». *New England Journal of Medicine* 337 (1): 32-41. <https://doi.org/10.1056/NEJM199707033370107>.

- Carrascosa, Conrado, Dele Raheem, Fernando Ramos, Ariana Saraiva, et António Raposo. 2021. « Microbial Biofilms in the Food Industry—A Comprehensive Review ». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18 (4): 2014. <https://doi.org/10.3390/ijerph18042014>.
- Cascione, Mariafrancesca, Valeria De Matteis, Paolo Pellegrino, Giovanni Albanese, Maria Luisa De Giorgi, Fabio Paladini, Massimo Corsalini, et Rosaria Rinaldi. 2021. « Improvement of PMMA Dental Matrix Performance by Addition of Titanium Dioxide Nanoparticles and Clay Nanotubes ». *Nanomaterials* 11 (8): 2027. <https://doi.org/10.3390/nano11082027>.
- Cerca, Nuno, Gerald B. Pier, Manuel Vilanova, Rosário Oliveira, et Joana Azeredo. 2005. « Quantitative Analysis of Adhesion and Biofilm Formation on Hydrophilic and Hydrophobic Surfaces of Clinical Isolates of Staphylococcus Epidermidis ». *Research in Microbiology* 156 (4): 506-14. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.01.007>.
- Chandra, Jyotsna, Duncan M. Kuhn, Pranab K. Mukherjee, Lois L. Hoyer, Thomas McCormick, et Mahmoud A. Ghannoum. 2001. « Biofilm Formation by the Fungal Pathogen Candida Albicans: Development, Architecture, and Drug Resistance ». *Journal of Bacteriology* 183 (18): 5385-94. <https://doi.org/10.1128/JB.183.18.5385-5394.2001>.
- Chao, Yashuan, Laura R. Marks, Melinda M. Pettigrew, et Anders P. Hakansson. 2015. « Streptococcus Pneumoniae Biofilm Formation and Dispersion during Colonization and Disease ». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 4 (janvier). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00194>.
- Chen, Shengfu, Lingyan Li, Christina L. Boozer, et Shaoyi Jiang. 2000. « Controlled Chemical and Structural Properties of Mixed Self-Assembled Monolayers of Alkanethiols on Au(111) ». *Langmuir* 16 (24): 9287-93. <https://doi.org/10.1021/la000417i>.
- Chen, Shixuan, Johnson V. John, Alec McCarthy, et Jingwei Xie. 2020. « New Forms of Electrospun Nanofiber Materials for Biomedical Applications ». *Journal of Materials Chemistry. B* 8 (17): 3733-46. <https://doi.org/10.1039/d0tb00271b>.
- Chien, Hsiu-Wen, Xiang-Yu Chen, Wen-Pei Tsai, et Mengshan Lee. 2020. « Inhibition of Biofilm Formation by Rough Shark Skin-Patterned Surfaces ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 186 (février): 110738. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110738>.
- Chin, Voon Kin, Tze Yan Lee, Basir Rusliza, et Pei Pei Chong. 2016. « Dissecting Candida Albicans Infection from the Perspective of C. Albicans Virulence and Omics Approaches on Host–Pathogen Interaction: A Review ». *International Journal of Molecular Sciences* 17 (10): 1643. <https://doi.org/10.3390/ijms17101643>.
- Cioffi, N., L. Torsi, N. Ditaranto, G. Tantillo, L. Ghibelli, L. Sabbatini, T. Bleve-Zacheo, M. D’Alessio, P. G. Zambonin, et E. Traversa. 2005. « Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties ». *Chemistry of Materials* 17 (21): 5255-62.
- Cobo, Fernando, Javier Rodríguez-Granger, Antonio Sampedro, Luis Aliaga-Martínez, et José María Navarro-Marí. 2017. « Candida Prosthetic Joint Infection. A Review of Treatment Methods ». *Journal of Bone and Joint Infection* 2 (2): 114-21. <https://doi.org/10.7150/jbji.17699>.
- Colas, André. 2005. « Silicones: Preparation, Properties and Performance ». *Dow Corning Corporation*. No. 01-3077-01.
- Colucci, F., P. McKeegan, H. M. Picton, et V. Pensabene. 2018. « Mouse Embryo Assay to Evaluate Polydimethylsiloxane (PDMS) Embryo-Toxicity ». Proceedings Paper. Proceedings of the 40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC 2018). Honolulu, HI, USA: IEEE. 29 octobre 2018. <https://eprints.whiterose.ac.uk/129871/>.
- Costerton, J. W. 1999. « Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections ». *Science* 284 (5418): 1318-22. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>.
- Cottenye, Nicolas, Karine Anselme, Lydie Ploux, et Corinne Vebert-Nardin. 2012. « Vesicular Structures Self-Assembled from Oligonucleotide-Polymer Hybrids: Mechanical Prevention of Bacterial Colonization Upon Their Surface Tethering Through Hybridization ». *Advanced Functional Materials* 22 (23): 4891-98. <https://doi.org/10.1002/adfm.201200988>.

- Cottier, Fabien, et Fritz A. Mühlischlegel. 2012. « Communication in Fungi ». *International Journal of Microbiology* 2012: 351832. <https://doi.org/10.1155/2012/351832>.
- Crawford, Russell J., Hayden K. Webb, Vi Khanh Truong, Jafar Hasan, et Elena P. Ivanova. 2012. « Surface Topographical Factors Influencing Bacterial Attachment ». *Advances in Colloid and Interface Science* 179-182 (novembre): 142-49. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2012.06.015>.
- D**avies, D. G., M. R. Parsek, J. P. Pearson, B. H. Iglewski, J. W. Costerton, et E.P. Greenberg. 1998. « The Involvement of Cell-to-Cell Signals in the Development of a Bacterial Biofilm ». *Science* 280 (avril). <https://doi.org/10.1126/science.280.5361.295>.
- DeBenedictis, Elizabeth P., Jenny Liu, et Sinan Keten. 2016. « Adhesion Mechanisms of Curli Subunit CsgA to Abiotic Surfaces ». *Science Advances* 2 (11): e1600998. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600998>.
- DeLisa, Matthew P., Chi-Fang Wu, Liang Wang, James J. Valdes, et William E. Bentley. 2001. « DNA Microarray-Based Identification of Genes Controlled by Autoinducer 2-Stimulated Quorum Sensing in *Escherichia coli* ». *Journal of Bacteriology* 183 (18): 5239-47. <https://doi.org/10.1128/JB.183.18.5239-5247.2001>.
- Deniau, Nicolas. 2019. « Décès liés aux infections nosocomiales : bilan 2008-2017 des signalements externes en France », 9.
- Derjaguin, B, et L Landau. 1941. « Theory of the Stability of Strongly Charged Lyophobic Sols and of the Adhesion of Strongly Charged Particles in Solutions of Electrolytes ». *Progress in Surface Science* 43 (1): 30-59. [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(93\)90013-L](https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90013-L).
- Desai, Jigar. 2014. « Fungal biofilms, drug resistance, and recurrent infection ». 2014. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25274758/>.
- Díaz, C., P. L. Schilardi, R. C. Salvarezza, et M. Fernández Lorenzo de Mele. 2007. « Nano/Microscale Order Affects the Early Stages of Biofilm Formation on Metal Surfaces ». *Langmuir* 23 (22): 11206-10. <https://doi.org/10.1021/la700650q>.
- Diggie, Stephen P., Ashleigh S. Griffin, Genevieve S. Campbell, et Stuart A. West. 2007. « Cooperation and Conflict in Quorum-Sensing Bacterial Populations ». *Nature* 450 (7168): 411-14. <https://doi.org/10.1038/nature06279>.
- Disegi, J. A., et L. Eschbach. 2000. « Stainless Steel in Bone Surgery ». *Injury* 31 Suppl 4 (décembre): 2-6. [https://doi.org/10.1016/s0020-1383\(00\)80015-7](https://doi.org/10.1016/s0020-1383(00)80015-7).
- Djabourov, Madeleine, Katsuyoshi Nishinari, et Simon B. Ross-Murphy. 2013. *Physical Gels from Biological and Synthetic Polymers*. Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139024136>.
- Donelli, G., I. Francolini, A. Piozzi, R. Di Rosa, et W. Marconi. 2002. « New Polymer-Antibiotic Systems to Inhibit Bacterial Biofilm Formation: A Suitable Approach to Prevent Central Venous Catheter-Associated Infections ». *Journal of Chemotherapy (Florence, Italy)* 14 (5): 501-7. <https://doi.org/10.1179/joc.2002.14.5.501>.
- Donlan, Rodney. 2001. « Biofilms and Device-Associated Infections ». *Emerging Infectious Diseases* 7 (2): 277-81. <https://doi.org/10.3201/eid0702.010226>.
- Donlan, Rodney M. 2002. « Biofilms: Microbial Life on Surfaces ». *Emerging Infectious Diseases* 8 (9): 881-90. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>.
- Drobnič, Matej, Ersin Ercin, Joao Gamelas, Emmanuel T. Papacostas, Konrad Slynarski, Urszula Zdanowicz, Tim Spalding, et Peter Verdonk. 2019. « Treatment Options for the Symptomatic Post-Meniscectomy Knee ». *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy: Official Journal of the ESSKA* 27 (6): 1817-24. <https://doi.org/10.1007/s00167-019-05424-3>.
- E**hlinger, Claire, Eric Mathieu, Morgane Rabineau, Vincent Ball, Philippe Laval, Youssef Haikel, Dominique Vautier, et Leyla Kocgozlu. 2021. « Insensitivity of Dental Pulp Stem Cells Migration to Substrate Stiffness ». *Biomaterials* 275 (août): 120969. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2021.120969>.



- Elena, P., et K. Miri. 2018. « Formation of contact active antimicrobial surfaces by covalent grafting of quaternary ammonium compounds ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 169 (septembre): 195-205. <https://doi.org/doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.04.065>. Epub 2018 May 16.
- Elliott, T. S., H. A. Moss, S. E. Tebbs, I. C. Wilson, R. S. Bonser, T. R. Graham, L. P. Burke, et M. H. Farouqi. 1997. « Novel Approach to Investigate a Source of Microbial Contamination of Central Venous Catheters ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology* 16 (3): 210-13. <https://doi.org/10.1007/BF01709583>.
- Encinas, Noemí, Ching-Yu Yang, Florian Geyer, Anke Kaltbeitzel, Philipp Baumli, Jonas Reinholz, Volker Mailänder, Hans-Jürgen Butt, et Doris Vollmer. 2020. « Submicrometer-Sized Roughness Suppresses Bacteria Adhesion ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 12 (19): 21192-200. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b22621>.
- F**abry, Jacques. 2011. « Risque infectieux fongique et travaux en établissement de santé ». 2011. [https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/\\_documents/consensus/risque-fongique\\_et\\_travaux.pdf](https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/_documents/consensus/risque-fongique_et_travaux.pdf).
- Fang, B., S. Gon, M. Park, K. N. Kumar, V. M. Rotello, K. Nusslein, et M. M. Santore. 2011. « Bacterial Adhesion on Hybrid Cationic Nanoparticle-Polymer Brush Surfaces: Ionic Strength Tunes Capture from Monovalent to Multivalent Binding ». *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces* 87 (1). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.05.010>.
- Fang, Yan, Gang Sun, TongQing Wang, Qian Cong, et LuQuan Ren. 2007. « Hydrophobicity Mechanism of Non-Smooth Pattern on Surface of Butterfly Wing ». *Chinese Science Bulletin* 52 (5): 711-16. <https://doi.org/10.1007/s11434-007-0120-5>.
- Fazli, Mustafa, Henrik Almlad, Morten Levin Rybtkke, Michael Givskov, et Tim Tolker-Nielsen. 2014. « Regulation of biofilm formation in Pseudomonas and Burkholderia species ». *Environmental Microbiology* 16 (7). <https://doi.org/doi: 10.1111/1462-2920.12448>.
- Feroz, Sandleen, Nawshad Muhammad, Jithendra Ranayake, et George Dias. 2020. « Keratin - Based Materials for Biomedical Applications ». *Bioactive Materials* 5 (3): 496-509. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.04.007>.
- Ferreira, V., M. Wiedmann, P. Teixeira, et M. J. Stasiewicz. 2014. « Listeria Monocytogenes Persistence in Food-Associated Environments: Epidemiology, Strain Characteristics, and Implications for Public Health ». *Journal of Food Protection* 77 (1): 150-70. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-150>.
- Ferri, Maurizio, Elena Ranucci, Paola Romagnoli, et Valerio Giaccone. 2017. « Antimicrobial Resistance: A Global Emerging Threat to Public Health Systems ». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57 (13): 2857-76. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1077192>.
- Fick, J., R. Steitz, V. Leiner, S. Tokumitsu, M. Himmelhaus, et M. Grunze. 2004. « Swelling Behavior of Self-Assembled Monolayers of Alkanethiol-Terminated Poly(Ethylene Glycol): A Neutron Reflectometry Study ». *Langmuir* 20 (10): 3848-53. <https://doi.org/10.1021/la049526d>.
- Flemming, Hans-Curt, et Jost Wingender. 2010. « The Biofilm Matrix ». *Nature Reviews. Microbiology* 8 (9): 623-33. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>.
- Flor-Parra, Ignacio, Manuel Bernal, Jacob Zhurinsky, et Rafael R. Daga. 2013. « Cell migration and division in amoeboid-like fission yeast ». *Biology Open* 3 (1): 108-15. <https://doi.org/10.1242/bio.20136783>.
- Francolini, Iolanda, Claudia Vuotto, Antonella Piozzi, et Gianfranco Donelli. 2017. « Antifouling and Antimicrobial Biomaterials: An Overview ». *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica* 125 (4): 392-417. <https://doi.org/10.1111/apm.12675>.
- Fu, Y., A. S. Ibrahim, D. C. Sheppard, Y.-C. Chen, S. W. French, J. E. Cutler, S. G. Filler, et J. E. Edward. 2002. « Candida albicans Als1p: an adhesin that is a downstream effector of the EFG1 filamentation pathway ». *Molecular Microbiology* 44 (1): 61-72.
- G**alil, Bella S., Cynthia McKenzie, Sarah Bailey, Marnie Campbell, Ian Davidson, Lisa Drake, Chad Hewitt, Anna Occhipinti-Ambrogi, et Richard Piola. 2019. « ICES Viewpoint Background

- Document: Evaluating and Mitigating Introduction of Marine Non-Native Species via Vessel Biofouling ». <https://doi.org/10.17895/ICES.PUB.4680>.
- Gallardo-Moreno, A. M., M. I. González-Martín, C. Pérez-Giraldo, J. M. Bruque, et A. C. Gómez-García. 2004. « The Measurement Temperature: An Important Factor Relating Physicochemical and Adhesive Properties of Yeast Cells to Biomaterials ». *Journal of Colloid and Interface Science* 271 (2). <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2003.12.008>.
- Gangneux, J.-P., C. Camus, et B. Philippe. 2008. « Épidémiologie et facteurs de risque de l'aspergillose invasive du sujet non neutropénique ». *Revue des Maladies Respiratoires* 25 (2): 139-53. [https://doi.org/10.1016/S0761-8425\(08\)71512-2](https://doi.org/10.1016/S0761-8425(08)71512-2).
- Ganguly, Shantanu, et Aaron P Mitchell. 2011. « Mucosal Biofilms of *Candida Albicans* ». *Current Opinion in Microbiology* 14 (4): 380-85. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.06.001>.
- Garaud, Jean-Luc. 2008. « Les silicones, 50 ans d'innovation en cosmétique ». *Chimie et physico-chimie des matières premières* 323-324 (novembre): 6.
- Garcia, Melissa C., Janis T. Lee, Caleen B. Ramsook, David Alsteens, Yves F. Dufrêne, et Peter N. Lipke. 2011. « A Role for Amyloid in Cell Aggregation and Biofilm Formation ». Édité par Kirsten Nielsen. *PLoS ONE* 6 (3): e17632. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017632>.
- Garrett, Trevor Roger, Manmohan Bhakoo, et Zhibing Zhang. 2008. « Bacterial Adhesion and Biofilms on Surfaces ». *Progress in Natural Science* 18 (9): 1049-56. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.04.001>.
- Ghigo, J. M. 2001. « Natural Conjugative Plasmids Induce Bacterial Biofilm Development ». *Nature* 412 (6845): 442-45. <https://doi.org/10.1038/35086581>.
- Gladfelter, A. S., et P. E. Sudbery. 2008. *The Septins*. Chichester: Wiley-Blackwell.
- Gominet, Marie, Fabrice Compain, Christophe Beloin, et David Lebeaux. 2017. « Central Venous Catheters and Biofilms: Where Do We Stand in 2017? » *APMIS* 125 (4): 365-75. <https://doi.org/10.1111/apm.12665>.
- Gotman, I. 1997. « Characteristics of Metals Used in Implants ». *Journal of Endourology* 11 (6): 383-89. <https://doi.org/10.1089/end.1997.11.383>.
- Gottenbos, B., H. C. Van Der Mei, H. J. Busscher, D. W. Grijpma, et J. Feijen. 1999. « Initial Adhesion and Surface Growth of *Pseudomonas Aeruginosa* on Negatively and Positively Charged Poly(Methacrylates) ». *Journal of Materials Science. Materials in Medicine* 10 (12): 853-55. <https://doi.org/10.1023/a:1008989416939>.
- Granger, Bruce L., Michelle L. Flenniken, Dana A. Davis, Aaron P. Mitchell, et Jim E. Cutler. 2005. « Yeast Wall Protein 1 of *Candida Albicans* ». *Microbiology* 151 (5): 1631-44. <https://doi.org/10.1099/mic.0.27663-0>.
- Gribova, Varvara, Fouzia Boulmedais, Cynthia Calligaro, Bernard Senger, Nihal Engin Vrana, et Philippe Lavalle. 2020. « Polyanionic Hydrogels as Reservoirs for Polycationic Antibiotic Substitutes Providing Prolonged Antibacterial Activity ». *Applied Materials & Interfaces*, mars, 10. <https://dx.doi.org/10.1021/acsami.9b23140>.
- Griffin, Patricia M, et Robert V Tauxe. 1991. « The Epidemiology of Infections Caused by *Escherichia Coli* O157:H7, Other Enterohemorrhagic *E. Coli*, and the Associated Hemolytic Uremic Syndrome », 39.
- Groot, Piet W. J. de, Oliver Bader, Albert D. de Boer, Michael Weig, et Neeraj Chauhan. 2013a. « Adhesins in human fungal pathogens: glue with plenty of stick ». *Eukaryotic Cell* 12 (4): 470-81.
- Guégan, C., J. Garderes, Gaël Le Pennec, F. Gaillard, F. Fay, I. Linossier, J.-M. Herry, M.-N. Bellon Fontaine, et K. Vallée Réhel. 2014. « Alteration of Bacterial Adhesion Induced by the Substrate Stiffness ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 114 (février): 193-200. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.10.010>.
- Guimarães, Carlos F., Luca Gasperini, Alexandra P. Marques, et Rui L. Reis. 2020. « The Stiffness of Living Tissues and Its Implications for Tissue Engineering ». *Nature Reviews Materials* 5 (5): 351-70. <https://doi.org/10.1038/s41578-019-0169-1>.

- Guo, S., M. Y. Kwek, Z. Q. Toh, D. Pranantyo, E.-T. Kang, X. J. Loh, X. Zhu, D. Jańczewski, et K. G. Neoh. 2018. « Tailoring Polyelectrolyte Architecture To Promote Cell Growth and Inhibit Bacterial Adhesion ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 10 (9): 7882-91.
- Gupta, Priya, Subhasis Sarkar, Bannhi Das, Surajit Bhattacharjee, et Prosun Tribedi. 2016. « Biofilm, pathogenesis and prevention-a journey to break the wall: a review ». *Archives of Microbiology* 198 (1): 1-15. <https://doi.org/10.1007/s00203-015-1148-6>.
- Hajipour, Mohammad J., Katharina M. Fromm, Ali Akbar Ashkarran, Dorleta Jimenez de Aberasturi, Idoia Ruiz de Larramendi, Teofilo Rojo, Vahid Serpooshan, Wolfgang J. Parak, et Morteza Mahmoudi. 2012. « Antibacterial Properties of Nanoparticles ». *Trends in Biotechnology* 30 (10): 499-511. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.06.004>.
- Hall, Charles, Sophie Brachat, et Fred S. Dietrich. 2005. « Contribution of Horizontal Gene Transfer to the Evolution of *Saccharomyces Cerevisiae* ». *Eukaryotic Cell* 4 (6): 1102-15. <https://doi.org/10.1128/EC.4.6.1102-1115.2005>.
- Harshey, Rasika M. 2003. « Bacterial Motility on a Surface: Many Ways to a Common Goal ». *Annual Review of Microbiology* 57: 249-73. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.091014>.
- Hasan, Jafar, Hayden K. Webb, Vi Khanh Truong, Sergey Pogodin, Vladimir A. Baulin, Gregory S. Watson, Jolanta A. Watson, Russell J. Crawford, et Elena P. Ivanova. 2013. « Selective bactericidal activity of nanopatterned superhydrophobic cicada *Psaltoda claripennis* wing surfaces ». *Applied Microbiology and Biotechnology* 97 (20): 9257. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4628-5>.
- Hatton, Natasha E., Christoph G. Baumann, et Martin A. Fascione. 2021. « Developments in Mannose-Based Treatments for Uropathogenic *Escherichia Coli* -Induced Urinary Tract Infections ». *ChemBioChem* 22 (4): 613-29. <https://doi.org/10.1002/cbic.202000406>.
- He, Jiankang, Yijun Bao, Jie Li, Zhongjun Qiu, Ying Liu, et Xu Zhang. 2019. « Nanocomplexes of Carboxymethyl Chitosan/Amorphous Calcium Phosphate Reduce Oral Bacteria Adherence and Biofilm Formation on Human Enamel Surface ». *Journal of Dentistry* 80 (janvier): 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.11.003>.
- Heinonen, Saara, Elina Huttunen-Saarivirta, Juha-Pekka Nikkanen, Mari Raulio, Outi Priha, Jarmo Laakso, Erna Storgårds, et Erkki Levänen. 2014. « Antibacterial Properties and Chemical Stability of Superhydrophobic Silver-Containing Surface Produced by Sol–Gel Route ». *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 453 (juillet): 149-61. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.04.037>.
- Helbig, Ralf, Denise Günther, Jens Friedrichs, Florian Rößler, Andrés Lasagni, et Carsten Werner. 2016. « The Impact of Structure Dimensions on Initial Bacterial Adhesion ». *Biomaterials Science* 4 (7): 1074-78. <https://doi.org/10.1039/c6bm00078a>.
- Hengzhuang, Wang, Oana Ciofu, Liang Yang, Hong Wu, Zhijun Song, Antonio Oliver, et Niels Høiby. 2013. « High  $\beta$ -Lactamase Levels Change the Pharmacodynamics of  $\beta$ -Lactam Antibiotics in *Pseudomonas Aeruginosa* Biofilms ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57 (1): 196-204. <https://doi.org/10.1128/AAC.01393-12>.
- Henikoff, S., J. C. Wallace, et J. P. Brown. 1990. « Finding Protein Similarities with Nucleotide Sequence Databases ». *Methods in Enzymology* 183: 111-32. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)83009-x](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)83009-x).
- Herrwerth, Sascha, Wolfgang Eck, Sven Reinhardt, et Michael Grunze. 2003. « Factors That Determine the Protein Resistance of Oligoether Self-Assembled Monolayers – Internal Hydrophilicity, Terminal Hydrophilicity, and Lateral Packing Density ». *Journal of the American Chemical Society* 125 (31): 9359-66. <https://doi.org/10.1021/ja034820y>.
- Høiby, Niels, Thomas Bjarnsholt, Michael Givskov, Søren Molin, et Oana Ciofu. 2010. « Antibiotic Resistance of Bacterial Biofilms ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 35 (4): 322-32. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>.

- Holz, Claudia, Dirk Opitz, Lilo Greune, Rainer Kurre, Michael Koomey, M. Alexander Schmidt, et Berenike Maier. 2010. « Multiple Pilus Motors Cooperate for Persistent Bacterial Movement in Two Dimensions ». *Physical Review Letters* 104 (17): 178104. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.104.178104>.
- Hou, Jiapeng, Deepak H. Veeregowda, Betsy van de Belt-Gritter, Henk J. Busscher, et Henny C. van der Mei. 2018. « Extracellular Polymeric Matrix Production and Relaxation under Fluid Shear and Mechanical Pressure in Staphylococcus Aureus Biofilms ». Édité par Andrew J. McBain. *Applied and Environmental Microbiology* 84 (1). <https://doi.org/10.1128/AEM.01516-17>.
- Hsu, Lillian C, Jean Fang, Diana A Borca-Tasciuc, Randy W Worobo, et Carmen I Moraru. 2013. « Effect of Micro- and Nanoscale Topography on the Adhesion of Bacterial Cells to Solid Surfaces ». *Applied and Environmental Microbiology* 79 (8): 10.
- Huber, Birgit, Kathrin Riedel, Morten Hentzer, Arne Heydorn, Astrid Gotschlich, Michael Givskov, Søren Molin, et Leo Eberl. 2001. « The Cep Quorum-Sensing System of Burkholderia Cepacia H111 Controls Biofilm Formation and Swarming Motility ». *Microbiology (Reading, England)* 147 (Pt 9): 2517-28. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-9-2517>.
- Humblot, Vincent, Jean-Fabrice Yala, Pascal Thebault, Kada Boukerma, Arnaud Héquet, Jean-Marc Berjeaud, et Claire-Marie Pradier. 2009. « The Antibacterial Activity of Magainin I Immobilized onto Mixed Thiols Self-Assembled Monolayers ». *Biomaterials* 30 (21): 3503-12. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.03.025>.
- Ikner, Luisa A., Rickard S. Toomey, Ginger Nolan, Julia W. Neilson, Barry M. Pryor, et Raina M. Maier. 2007. « Culturable Microbial Diversity and the Impact of Tourism in Kartchner Caverns, Arizona ». *Microbial Ecology* 53 (1): 30-42. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9135-8>.
- Institut Pasteur. 2015. « Candidoses ». Institut Pasteur. 2015. <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/candidoses>.
- Irie, Y., B. R. Borlee, J. R. O'Connor, P. J. Hill, C. S. Harwood, D. J. Wozniak, et M. R. Parsek. 2012. « Self-Produced Exopolysaccharide Is a Signal That Stimulates Biofilm Formation in Pseudomonas Aeruginosa ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109 (50): 20632-36. <https://doi.org/10.1073/pnas.1217993109>.
- Israelachvili, Jacob N. 2011. *Intermolecular and Surface Forces*. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, Acad. Press.
- Ivanova, Elena P., Jafar Hasan, Hayden K. Webb, Vi Khanh Truong, Gregory S. Watson, Jolanta A. Watson, Vladimir A. Baulin, et al. 2012. « Natural Bactericidal Surfaces: Mechanical Rupture of Pseudomonas aeruginosa Cells by Cicada Wings ». *Small* 8 (16): 2489-94. <https://doi.org/10.1002/sml.201200528>.
- Jackson, Sarah, Lisa Coulthwaite, Zvi Loewy, Anthony Scallan, et Joanna Verran. 2014. « Biofilm Development by Blastospores and Hyphae of Candida Albicans on Abraded Denture Acrylic Resin Surfaces ». *The Journal of Prosthetic Dentistry* 112 (4): 988-93. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2014.02.003>.
- James, Garth A., Laura Boegli, John Hancock, Lisa Bowersock, Albert Parker, et Brian M. Kinney. 2019. « Bacterial Adhesion and Biofilm Formation on Textured Breast Implant Shell Materials ». *Aesthetic Plastic Surgery* 43 (2): 490-97. <https://doi.org/10.1007/s00266-018-1234-7>.
- Jankauskaitė, V., A. Lazauskas, E. Griškoniš, et A. Lisauskaitė. 2017. « UV-Curable Aliphatic Silicone Acrylate Organic-Inorganic Hybrid Coatings with Antibacterial Activity ». *Molecules* 22 (6). <https://doi.org/doi:10.3390/molecules22060964>.
- Jansen, K, J.F.A van der Werff, P.B van Wachem, J-P.A Nicolai, L.F.M.H de Leij, et M.J.A van Luyn. 2004. « A Hyaluronan-Based Nerve Guide: In Vitro Cytotoxicity, Subcutaneous Tissue Reactions, and Degradation in the Rat ». *Biomaterials* 25 (3): 483-89. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00544-1](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00544-1).
- Jassby, Alan, et Thomas Powell. 1975. « Vertical Patterns of Eddy Diffusion During Stratification in Castle Lake, California ». *Limnology and Oceanography* 20 (4): 530-43.
- Jin, Y., L. P. Samaranayake, Y. Samaranayake, et H. K. Yip. 2004. « Biofilm formation of Candida albicans is variably affected by saliva and dietary sugars ». *Archives of Oral Biology* 49 (10): 789-98.

- Joeris, Alexander, Sabine Goldhahn, Elke Rometsch, et Dankward Höntzsch. 2017. « [Titanium or steel as osteosynthesis material : Systematic literature search for clinical evidence] ». *Der Unfallchirurg* 120 (2): 96-102. <https://doi.org/10.1007/s00113-016-0299-5>.
- Johani, Khalid, Danya Abualsaud, Dayane M. Costa, Honghua Hu, Greg Whiteley, Anand Deva, et Karen Vickery. 2018. « Characterization of Microbial Community Composition, Antimicrobial Resistance and Biofilm on Intensive Care Surfaces ». *Journal of Infection and Public Health* 11 (3): 418-24. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.10.005>.
- Johnson, J. R., et A. L. Stell. 2000. « Extended Virulence Genotypes of Escherichia Coli Strains from Patients with Urosepsis in Relation to Phylogeny and Host Compromise ». *The Journal of Infectious Diseases* 181 (1): 261-72. <https://doi.org/10.1086/315217>.
- Johnston, Calum, Bernard Martin, Gwennaele Fichant, Patrice Polard, et Jean-Pierre Claverys. 2014. « Bacterial Transformation: Distribution, Shared Mechanisms and Divergent Control ». *Nature Reviews Microbiology* 12 (3): 181-96. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3199>.
- Jones, G. Ll, A. D. Russell, Z. Caliskan, et D. J. Stickler. 2005. « A Strategy for the Control of Catheter Blockage by Crystalline Proteus Mirabilis Biofilm Using the Antibacterial Agent Triclosan ». *European Urology* 48 (5): 838-45. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2005.07.004>.
- Joo, Hwang-Soo, et Michael Otto. 2012. « Molecular Basis of In Vivo Biofilm Formation by Bacterial Pathogens ». *Chemistry & Biology* 19 (12): 1503-13. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.10.022>.
- Jung, Ole, Milena Radenkovic, Sanja Stojanović, Caroline Lindner, Milijana Batinic, Oliver Görke, Jens Pissarek, Annica Pröhl, Stevo Najman, et Mike Barbeck. 2020. « In Vitro and In Vivo Biocompatibility Analysis of a New Transparent Collagen-Based Wound Membrane for Tissue Regeneration in Different Clinical Indications ». *In Vivo (Athens, Greece)* 34 (5): 2287-95. <https://doi.org/10.21873/invivo.12040>.
- K**ao, W. K., P. M. Gagnon, J. Vogel, et R. A. Chole. 2017. « Surface charge modification decreases Pseudomonas aeruginosa adherence in vitro and bacterial persistence in an in vivo implant model ». *Laryngoscope* 127 (7): 1655-61.
- Kaper, James B., James P. Nataro, et Harry L. Mobley. 2004. « Pathogenic Escherichia Coli ». *Nature Reviews. Microbiology* 2 (2): 123-40. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>.
- Kargar, Mehdi, Ji Wang, Amrinder S. Nain, et Bahareh Behkam. 2012. « Controlling Bacterial Adhesion to Surfaces Using Topographical Cues: A Study of the Interaction of Pseudomonas Aeruginosa with Nanofiber-Textured Surfaces ». *Soft Matter* 8 (40): 10254-59. <https://doi.org/10.1039/C2SM26368H>.
- Kaur, Sandeep, Kusum Harjai, et Sanjay Chhibber. 2016. « In Vivo Assessment of Phage and Linezolid Based Implant Coatings for Treatment of Methicillin Resistant S. Aureus (MRSA) Mediated Orthopaedic Device Related Infections ». *PLOS ONE* 11 (6): e0157626. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157626>.
- Ke, Wan-Ju, Yi-Huang Hsueh, Yu-Chieh Cheng, Chih-Ching Wu, et Shih-Tung Liu. 2015. « Water surface tension modulates the swarming mechanics of Bacillus subtilis ». *Frontiers in Microbiology* 6 (septembre): 1017. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01017>.
- Kearns, D. B. 2010. « A field guide to bacterial swarming motility ». *Nature Reviews Microbiology* 8 (août): 634-44.
- Keskin, Damla, Olga Mergel, Henny C. van der Mei, Henk J. Busscher, et Patrick van Rijn. 2019. « Inhibiting Bacterial Adhesion by Mechanically Modulated Microgel Coatings ». *Biomacromolecules* 20 (1): 243-53. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b01378>.
- Khani, Arman, et Nasrin Talebian. 2017. « In vitro bactericidal effect of ultrasonically sol-gel-coated novel CuO/TiO<sub>2</sub>/PEG/cotton nanocomposite for wound care ». *Journal of Coatings Technology and Research* 14 (février). <https://doi.org/10.1007/s11998-016-9870-9>.
- Khoroushi, Maryam, et Fateme Keshani. 2013. « A Review of Glass-Ionomers: From Conventional Glass-Ionomer to Bioactive Glass-Ionomer ». *Dental Research Journal* 10 (4): 411-20.

- Kim, Joon, et Peter Sudbery. 2011. « Candida Albicans, a Major Human Fungal Pathogen ». *The Journal of Microbiology* 49 (2): 171-77. <https://doi.org/10.1007/s12275-011-1064-7>.
- Kinosita, Yoshiaki, Daisuke Nakane, Mitsuhiro Sugawa, Tomoko Masaïke, Kana Mizutani, Makoto Miyata, et Takayuki Nishizaka. 2014. « Unitary Step of Gliding Machinery in Mycoplasma Mobile ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 (23): 8601-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310355111>.
- Klevens, R. Monina, Jonathan R. Edwards, Chesley L. Richards, Teresa C. Horan, Robert P. Gaynes, Daniel A. Pollock, et Denise M. Cardo. 2007. « Estimating Health Care-Associated Infections and Deaths in U.S. Hospitals, 2002 ». *Public Health Reports* 122 (2): 160-66.
- Kobori, H., T. Toda, H. Yaguchi, M. Toya, M. Yanagida, et M. Osumi. 1994. « Fission Yeast Protein Kinase C Gene Homologues Are Required for Protoplast Regeneration: A Functional Link between Cell Wall Formation and Cell Shape Control ». *Journal of Cell Science* 107 ( Pt 5) (mai): 1131-36.
- Köhn, Maja, Juan M. Benito, Carmen Ortiz Mellet, Thisbe K. Lindhorst, et José M. García Fernández. 2004. « Functional Evaluation of Carbohydrate-Centred Glycoclusters by Enzyme-Linked Lectin Assay: Ligands for Concanavalin A ». *Chembiochem: A European Journal of Chemical Biology* 5 (6): 771-77. <https://doi.org/10.1002/cbic.200300807>.
- Kojic, Erna M., et Rabih O. Darouiche. 2004. « Candida Infections of Medical Devices ». *Clinical Microbiology Reviews* 17 (2): 255-67. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.2.255-267.2004>.
- Kolewe, Kristopher W., Shelly R. Peyton, et Jessica D. Schiffman. 2015. « Fewer Bacteria Adhere to Softer Hydrogels ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 7 (35): 19562-69. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b04269>.
- Kolewe, Kristopher W., Jiixin Zhu, Natalie R. Mako, Stephen S. Nonnenmann, et Jessica D. Schiffman. 2018. « Bacterial Adhesion Is Affected by the Thickness and Stiffness of Poly(Ethylene Glycol) Hydrogels ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 10 (3): 2275-81. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b12145>.
- Kollef, Marin H., Antoni Torres, Andrew F. Shorr, Ignacio Martin-Loeches, et Scott T. Micek. 2021. « Nosocomial Infection ». *Critical Care Medicine* 49 (2): 169-87. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004783>.
- Kontomaris, S. V., et A. Malamou. 2020. « Hertz Model or Oliver & Pharr Analysis? Tutorial Regarding AFM Nanoindentation Experiments on Biological Samples » 7 (3): 033001. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab79ce>.
- Kopecká, M., G. H. Fleet, et H. J. Phaff. 1995. « Ultrastructure of the cell wall of Schizosaccharomyces pombe following treatment with various glucanases ». *Journal of Structural Biology* 114 (2): 140-52.
- Kovačević, Davor, Rok Pratnekar, Karmen Godič Torkar, Jasmina Salopek, Goran Dražić, Anže Abram, et Klemen Bohinc. 2016. « Influence of Polyelectrolyte Multilayer Properties on Bacterial Adhesion Capacity ». *Polymers* 8 (10): 345. <https://doi.org/10.3390/polym8100345>.
- Krebs, M.R.H., E.H.C. Bromley, et A.M. Donald. 2005. « The Binding of Thioflavin-T to Amyloid Fibrils: Localisation and Implications ». *Journal of Structural Biology* 149 (1): 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2004.08.002>.
- Krysan, Damian J. 2017. « The unmet clinical need of novel antifungal drugs ». *Virulence* 8 (2): 135-37. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1276692>.
- Kulaga, E. 2014. « Antimicrobial Coatings for Soft Materials ». *Thèse Haute-Alsace*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Antimicrobial-coatings-for-soft-materials-Kulaga/53003533b212a0d5d53361285b529c7ae56d0bb7>.
- Labbate, Maurizio, Shu Yeong Queck, Kai Shyang Koh, Scott A. Rice, Michael Givskov, et Staffan Kjelleberg. 2004. « Quorum Sensing-Controlled Biofilm Development in Serratia Liquefaciens MG1 ». *Journal of Bacteriology* 186 (3): 692-98. <https://doi.org/10.1128/JB.186.3.692-698.2004>.

- Lagree, Katherine, Htwe H. Mon, Aaron P. Mitchell, et William A. Ducker. 2018. « Impact of Surface Topography on Biofilm Formation by *Candida Albicans* ». Édité par Alix Therese Coste. *PLOS ONE* 13 (6): e0197925. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197925>.
- Lai, Chang Quan. 2018. « Bacterial Attachment, Aggregation, and Alignment on Subcellular Nanogratings ». *Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids* 34 (13): 4059-70. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b00350>.
- Lalo, Helene, Jean-Christophe Cau, Christophe Thibault, Nathalie Marsaud, Childerick Severac, et Christophe Vieu. 2009. « Microscale Multiple Biomolecules Printing in One Step Using a PDMS Macrostamp ». *Microelectronic Engineering* 86 (4-6): 1428-30. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2008.11.088>.
- Lawrence, J. R., D. R. Korber, B. D. Hoyle, J. W. Costerton, et D. E. Caldwell. 1991. « Optical Sectioning of Microbial Biofilms ». *Journal of Bacteriology* 173 (20): 6558-67. <https://doi.org/10.1128/jb.173.20.6558-6567.1991>.
- Lee, Soomin, Kyoung-Hee Choi, et Yohan Yoon. 2014. « Effect of NaCl on Biofilm Formation of the Isolate from *Staphylococcus Aureus* Outbreak Linked to Ham ». *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 34 (2): 257-61. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.2.257>.
- Leeuwenhoek, A. 1932. « Antony van Leeuwenhoek and his "Little Animals": being some Account of the Father of Protozoology and Bacteriology and his Multifarious Discoveries in these Disciplines | Nature ». 1932. <https://www.nature.com/articles/130679a0>.
- Lejars, Marlène, André Margailan, et Christine Bressy. 2012. « Fouling Release Coatings: A Nontoxic Alternative to Biocidal Antifouling Coatings ». *Chemical Reviews* 112 (8): 4347-90. <https://doi.org/10.1021/cr200350v>.
- Lerminiaux, Nicole A., et Andrew D. S. Cameron. 2019. « Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Clinical Environments ». *Canadian Journal of Microbiology* 65 (1): 34-44. <https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0275>.
- Lewis, Kim. 2007. « Persister Cells, Dormancy and Infectious Disease ». *Nature Reviews. Microbiology* 5 (1): 48-56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1557>.
- Li, X., G. S. Cheung, G. S. Watson, J. A. Watson, S. Lin, L. Schwarzkopf, et D. W. Green. 2017. « Correction: The Nanotipped Hairs of Gecko Skin and Biotemplated Replicas Impair and/or Kill Pathogenic Bacteria with High Efficiency ». *Nanoscale* 9 (1): 464. <https://doi.org/10.1039/c6nr90257j>.
- Lia Rimondini, Andrea Cochis, Elena Varoni, Barbara Azzimonti, et Antonio Carrassi. 2016. « Biofilm Formation on Implants and Prosthetic Dental Materials ». *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*, 991. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-12460-5\\_48](https://doi.org/10.1007/978-3-319-12460-5_48).
- Lichter, Jenny A., M. Todd Thompson, Maricela Delgadillo, Takehiro Nishikawa, Michael F. Rubner, et Krystyn J. Van Vliet. 2008. « Substrata Mechanical Stiffness Can Regulate Adhesion of Viable Bacteria ». *Biomacromolecules* 9 (6): 1571-78. <https://doi.org/10.1021/bm701430y>.
- Lim, Yeon Hee, Chung Hee Park, et Jooyoun Kim. 2010. « Hair Conditioning Effect of Amino Silicone Softeners in Varied Treatment Conditions ». *Fibers and Polymers* 11 (3): 507-15. <https://doi.org/10.1007/s12221-010-0507-9>.
- Limoli, Dominique H., Christopher J. Jones, et Daniel J. Wozniak. 2015. « Bacterial Extracellular Polysaccharides in Biofilm Formation and Function ». Édité par Mahmoud Ghannoum, Matthew Parsek, Marvin Whiteley, et Pranab Mukherjee. *Microbiology Spectrum* 3 (3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0011-2014>.
- Liu, Na, Tormod Skauge, David Landa-Marbán, Beate Hovland, Bente Thorbjørnsen, Florin Adrian Radu, Bartek Florczyk Vik, Thomas Baumann, et Gunhild Bødtker. 2019. « Microfluidic Study of Effects of Flow Velocity and Nutrient Concentration on Biofilm Accumulation and Adhesive Strength in the Flowing and No-Flowing Microchannels ». *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 46 (6): 855-68. <https://doi.org/10.1007/s10295-019-02161-x>.
- Liu, Xiaobo, Robert J. Koestler, Thomas Warscheid, Yoko Katayama, et Ji-Dong Gu. 2020. « Microbial Deterioration and Sustainable Conservation of Stone Monuments and Buildings ». *Nature Sustainability* 3 (12): 991-1004. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00602-5>.

- Loosdrecht, M C van, J Lyklema, W Norde, G Schraa, et A J Zehnder. 1987. « The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. » *Applied and Environmental Microbiology* 53 (8): 1893-97.
- López-Ribot, José L. 2005. « Candida Albicans Biofilms: More Than Filamentation ». *Current Biology* 15 (12): R453-55. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.06.020>.
- Lorite, Gabriela S., Carolina M. Rodrigues, Alessandra A. de Souza, Christine Kranz, Boris Mizaikoff, et Mônica A. Cotta. 2011. « The Role of Conditioning Film Formation and Surface Chemical Changes on Xylella Fastidiosa Adhesion and Biofilm Evolution ». *Journal of Colloid and Interface Science* 359 (1): 289-95. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.03.066>.
- Lynch, A. Simon, et Gregory T. Robertson. 2008. « Bacterial and Fungal Biofilm Infections ». *Annual Review of Medicine* 59: 415-28. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.59.110106.132000>.
- M**aghaireh, G. A., N. A. Taha, et H. Alzraikat. 2017. « The Silorane-Based Resin Composites: A Review ». *Operative Dentistry* 42 (1): E24-34. <https://doi.org/10.2341/15-311-LIT>.
- Maher, Christopher, Benjamin Feiner, Kaven Baessler, et Corina Schmid. 2013. « Surgical Management of Pelvic Organ Prolapse in Women ». *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, n° 4 (avril): CD004014. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004014.pub5>.
- Marguier, Adeline, Nicolas Poulin, Charline Soraru, Laurent Vonna, Samar Hajjar-Garreau, Philippe Kunemann, Aissam Airoudj, et al. 2020. « Bacterial Colonization of Low-Wettable Surfaces Is Driven by Culture Conditions and Topography ». *Advanced Materials Interfaces* 7 (20): 2000179. <https://doi.org/10.1002/admi.202000179>.
- Martinez, L. R., et A. Casadevall. 2007. « Cryptococcus neoformans biofilm formation depends on surface support and carbon source and reduces fungal cell susceptibility to heat, cold, and UV light ». *Applied and Environmental Microbiology* 73 (14): 4592-4601.
- Martins, Margarida, Priya Uppuluri, Derek P. Thomas, Ian A. Cleary, Mariana Henriques, José L. Lopez-Ribot, et Rosário Oliveira. 2010. « Presence of Extracellular DNA in the Candida Albicans Biofilm Matrix and Its Contribution to Biofilms ». *Mycopathologia* 169 (5): 323-31. <https://doi.org/10.1007/s11046-009-9264-y>.
- Matalon, Shlomo, Dana Safadi, Avi Meirowitz, et Zeev Ormianer. 2021. « The Effect of Aging on the Roughness and Bacterial Adhesion of Lithium Disilicate and Zirconia Ceramics ». *Journal of Prosthodontics: Official Journal of the American College of Prosthodontists* 30 (5): 440-46. <https://doi.org/10.1111/jopr.13257>.
- Mattick, John S. 2002. « Type IV Pili and Twitching Motility ». *Annual Review of Microbiology* 56 (1): 289-314. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160938>.
- Merode, Annet E. J. van, Henny C. van der Mei, Henk J. Busscher, et Bastiaan P. Krom. 2006. « Influence of Culture Heterogeneity in Cell Surface Charge on Adhesion and Biofilm Formation by Enterococcus Faecalis ». *Journal of Bacteriology* 188 (7): 2421-26. <https://doi.org/10.1128/JB.188.7.2421-2426.2006>.
- Miao, Huang, Shalini Ratnasingam, Chui San Pu, Malan Manish Desai, et Chun Chau Sze. 2009. « Dual Fluorescence System for Flow Cytometric Analysis of Escherichia Coli Transcriptional Response in Multi-Species Context ». *Journal of Microbiological Methods* 76 (2): 109-19. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.09.015>.
- Mion, Sonia, Benjamin Rémy, Laure Plener, Éric Chabrière, et David Daudé. 2019. « Quorum sensing et quorum quenching : Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence ? » *médecine/sciences* 35 (1): 31-38. <https://doi.org/10.1051/medsci/2018310>.
- Mirsepasi-Lauridsen, Hengameh Chloé, Bruce Andrew Vallance, Karen Angeliki Kroghfelt, et Andreas Munk Petersen. 2019. « Escherichia Coli Pathobionts Associated with Inflammatory Bowel Disease ». *Clinical Microbiology Reviews* 32 (2): e00060-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00060-18>.
- Mitchell, K., R. Zarnowski, H. Sanchez, J. Edward, E. L. Reinicke, J. Nett, A. Mitchell, et D. Andes. 2015. « Community participation in biofilm matrix assembly and function ». *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421437112>.



- Mitchell, Ralph, et Ji-Dong Gu. 2000. « Changes in the Biofilm Microstructure of Limestone Caused by Atmospheric Pollutants ». *D. Gu*, 5.
- Miyata, Makoto. 2010. « Unique Centipede Mechanism of Mycoplasma Gliding ». *Annual Review of Microbiology* 64: 519-37. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134116>.
- Moons, P., Rob Van Houdt, A. Aertsen, K. Vanoirbeek, et Chris W. Michiels. 2005. « Quorum sensing dependent production of antimicrobial component influences establishment of *E. coli* in dual species biofilms with *Serratia plymuthica*. » *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 70(2):195-8. [https://www.researchgate.net/publication/7404933\\_Moons\\_P\\_Van\\_Houdt\\_R\\_Aertsen\\_A\\_Vanoirbeek\\_K\\_Michiels\\_CW\\_Quorum\\_sensing\\_dependent\\_production\\_of\\_antimicrobial\\_component\\_influences\\_establishment\\_of\\_E\\_coli\\_in\\_dual\\_species\\_biofilms\\_with\\_Serratia\\_plymuthica](https://www.researchgate.net/publication/7404933_Moons_P_Van_Houdt_R_Aertsen_A_Vanoirbeek_K_Michiels_CW_Quorum_sensing_dependent_production_of_antimicrobial_component_influences_establishment_of_E_coli_in_dual_species_biofilms_with_Serratia_plymuthica).
- Morisaku, Toshinori, Junji Watanabe, Tomohiro Konno, Madoka Takai, et Kazuhiko Ishihara. 2008. « Hydration of Phosphorylcholine Groups Attached to Highly Swollen Polymer Hydrogels Studied by Thermal Analysis ». *Polymer* 49 (21): 4652-57. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.08.025>.
- Moyes, D. L., M. Runglall, C. Murciano, C. Shen, D. Nayar, S. Thavaraj, A. Kohli, et al. 2010. « A biphasic innate immune MAPK response discriminates between the yeast and hyphal forms of *Candida albicans* in epithelial cells ». *Cell Host & Microbe*, septembre. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20833374/>.
- Muttagi, Seshagiri, et Jyothi Keralapura Subramanya. 2017. « Effect of Incorporating Seed Oils on the Antifungal Property, Surface Roughness, Wettability, Weight Change, and Glucose Sorption of a Soft Liner ». *The Journal of Prosthetic Dentistry* 117 (1): 178-85. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2016.05.010>.
- N**akane, Daisuke, Keiko Sato, Hirofumi Wada, Mark J. McBride, et Koji Nakayama. 2013. « Helical Flow of Surface Protein Required for Bacterial Gliding Motility ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (27): 11145-50. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219753110>.
- Nalaskowski, Jakub, Jarosław Drelich, Jan Hupka, et Jan D. Miller. 2003. « Adhesion between Hydrocarbon Particles and Silica Surfaces with Different Degrees of Hydration As Determined by the AFM Colloidal Probe Technique ». *Langmuir* 19 (13): 5311-17. <https://doi.org/10.1021/la026911z>.
- Nan, Beiyan, Mark J. McBride, Jing Chen, David R. Zusman, et George Oster. 2014. « Bacteria that glide with helical tracks ». *Current biology: CB* 24 (4): R169-73. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.12.034>.
- Nealson, Kenneth H., Terry Platt, et J. Woodland Hastings. 1970. « Cellular Control of the Synthesis and Activity of the Bacterial Luminescent System ». *Journal of Bacteriology* 104 (1): 313-22. <https://doi.org/10.1128/jb.104.1.313-322.1970>.
- Negri, Viviana, Jesús Pacheco-Torres, Daniel Calle, et Pilar López-Larrubia. 2020. « Carbon Nanotubes in Biomedicine ». *Topics in Current Chemistry (Cham)* 378 (1): 15. <https://doi.org/10.1007/s41061-019-0278-8>.
- Nesse, Live L., Camilla Sekse, Kristin Berg, Karianne C. S. Johannesen, Heidi Solheim, Lene K. Vestby, et Anne Margrete Urdahl. 2014. « Potentially Pathogenic *Escherichia coli* Can Form a Biofilm under Conditions Relevant to the Food Production Chain ». Édité par M. W. Griffiths. *Applied and Environmental Microbiology* 80 (7): 2042-49. <https://doi.org/10.1128/AEM.03331-13>.
- Nett, Jeniel E., Kyler Crawford, Karen Marchillo, et David R. Andes. 2010. « Role of Fks1p and Matrix Glucan in *Candida albicans* Biofilm Resistance to an Echinocandin, Pyrimidine, and Polyene ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54 (8): 3505-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.00227-10>.
- Nett, Jeniel, Leslie Lincoln, Karen Marchillo, Randall Massey, Kathleen Holoyda, Brian Hoff, Michelle VanHandel, et David Andes. 2007. « Putative Role of Beta-1,3 Glucans in *Candida albicans*

- Biofilm Resistance ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51 (2): 510-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.01056-06>.
- Niederdorfer, Robert, Damian Hausherr, Alejandro Palomo, Jing Wei, Paul Magyar, Barth F. Smets, Adriano Joss, et Helmut Bürgmann. 2021. « Temperature Modulates Stress Response in Mainstream Anammox Reactors ». *Communications Biology* 4 (1): 23. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01534-8>.
- Niinomi, Mitsuo. 2008. « Metallic Biomaterials ». *Journal of Artificial Organs: The Official Journal of the Japanese Society for Artificial Organs* 11 (3): 105-10. <https://doi.org/10.1007/s10047-008-0422-7>.
- Nobile, Clarissa J., et Alexander D. Johnson. 2015. « *Candida Albicans* Biofilms and Human Disease ». *Annual Review of Microbiology* 69 (1): 71-92. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>.
- Nobile, Clarissa J., Heather A. Schneider, Jeniel E. Nett, Donald C. Sheppard, Scott G. Filler, David R. Andes, et Aaron P. Mitchell. 2008. « Complementary Adhesin Function in *C. Albicans* Biofilm Formation ». *Current Biology: CB* 18 (14): 1017-24. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.06.034>.
- Novo, M., F. Bigey, E. Beyne, V. Galeote, F. Gavory, S. Mallet, B. Cambon, et al. 2009. « Eukaryote-to-Eukaryote Gene Transfer Events Revealed by the Genome Sequence of the Wine Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* EC1118 ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (38): 16333-38. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904673106>.
- Noyce, J. O., H. Michels, et C. W. Keevil. 2006. « Use of Copper Cast Alloys to Control *Escherichia Coli* O157 Cross-Contamination during Food Processing ». *Applied and Environmental Microbiology* 72 (6): 4239-44. <https://doi.org/10.1128/AEM.02532-05>.
- O**bry, Antoine, Julie Hardouin, Thierry Lequerré, Frédérique Jarnier, Olivier Boyer, Patrice Fardellone, Peggy Philippe, et al. 2015. « Identification of 7 Proteins in Sera of RA Patients with Potential to Predict ETA/MTX Treatment Response ». *Theranostics* 5 (11): 1214-24. <https://doi.org/10.7150/thno.12403>.
- Oliver, S. P., B. M. Jayarao, et R. A. Almeida. 2005. « Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications ». *Foodborne Pathogens and Disease* 2 (2): 115-29. <https://doi.org/10.1089/fpd.2005.2.115>.
- Olsén, A., A. Jonsson, et S. Normark. 1989. « Fibronectin Binding Mediated by a Novel Class of Surface Organelles on *Escherichia Coli* ». *Nature* 338 (6217): 652-55. <https://doi.org/10.1038/338652a0>.
- Ong, Yea-Ling, Annetta Razatos, George Georgiou, et Mukul M. Sharma. 1999. « Adhesion Forces between *E. Coli* Bacteria and Biomaterial Surfaces ». *Langmuir* 15 (8): 2719-25. <https://doi.org/10.1021/la981104e>.
- Ordal, G. W. 1985. « Bacterial Chemotaxis: Biochemistry of Behavior in a Single Cell ». *Critical Reviews in Microbiology* 12 (2): 95-130. <https://doi.org/10.3109/10408418509104426>.
- Otoo, Henry N., Kyeng Gea Lee, Weigang Qiu, et Peter N. Lipke. 2008. « *Candida Albicans* Als Adhesins Have Conserved Amyloid-Forming Sequences ». *Eukaryotic Cell* 7 (5): 776-82. <https://doi.org/10.1128/EC.00309-07>.
- O'Toole, George, Heidi B. Kaplan, et Roberto Kolter. 2000. « Biofilm Formation as Microbial Development ». *Annual Review of Microbiology* 54 (1): 49-79. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49>.
- O'Toole, George, et R. Kolter. 1998. « Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis ». *Molecular Microbiology* 28 (3). <https://doi.org/doi:10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>.
- Otto, Karen, Joakim Norbeck, Thomas Larsson, Karl-Anders Karlsson, et Malte Hermansson. 2001. « Adhesion of Type 1-Fimbriated *Escherichia coli* to Abiotic Surfaces Leads to Altered Composition of Outer Membrane Proteins ». *Journal of Bacteriology* 183 (8): 2445-53. <https://doi.org/10.1128/JB.183.8.2445-2453.2001>.

- Paharik, Alexandra E., et Alexander R. Horswill. 2016. « The Staphylococcal Biofilm: Adhesion, Regulation, and Host Response ». Édité par Indira T. Kudva et Tracy L. Nicholson. *Microbiology Spectrum* 4 (2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0022-2015>.
- Palková, Zdena, Blanka Janderová, Jiří Gabriel, Blanka Zikánová, Martin Pospíšek, et Jitka Forstová. 1997. « Ammonia Mediates Communication between Yeast Colonies ». *Nature* 390 (6659): 532-36. <https://doi.org/10.1038/37398>.
- Palmer, Jon, Steve Flint, et John Brooks. 2007. « Bacterial Cell Attachment, the Beginning of a Biofilm ». *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 34 (9): 577-88. <https://doi.org/10.1007/s10295-007-0234-4>.
- Pant, Jitendra, Jing Gao, Marcus J. Goudie, Sean P. Hopkins, Jason Locklin, et Hitesh Handa. 2017. « A Multi-Defense Strategy: Enhancing Bactericidal Activity of a Medical Grade Polymer with a Nitric Oxide Donor and Surface-Immobilized Quaternary Ammonium Compound ». *Acta Biomaterialia* 58 (août): 421-31. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.05.061>.
- Park, Ji-Won, Jung-Sub An, Won Hee Lim, Bum-Soon Lim, et Sug-Joon Ahn. 2019. « Microbial Changes in Biofilms on Composite Resins with Different Surface Roughness: An in Vitro Study with a Multispecies Biofilm Model ». *The Journal of Prosthetic Dentistry* 122 (5): 493.e1-493.e8. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.08.009>.
- Parrino, Barbara, Domenico Schillaci, Ilaria Carnevale, Elisa Giovannetti, Patrizia Diana, Girolamo Cirrincione, et Stella Cascioferro. 2019. « Synthetic Small Molecules as Anti-Biofilm Agents in the Struggle against Antibiotic Resistance ». *European Journal of Medicinal Chemistry* 161 (janvier): 154-78. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.10.036>.
- Partridge, Jonathan D., Nguyen T. Q. Nhu, Yann S. Dufour, et Rasika M. Harshey. 2020. « Tumble Suppression Is a Conserved Feature of Swarming Motility ». *mBio* 11 (3): e01189-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.01189-20>.
- Parvate, Sumit, Prakhari Dixit, et Sujay Chattopadhyay. 2020. « Superhydrophobic Surfaces: Insights from Theory and Experiment ». *The Journal of Physical Chemistry B* 124 (8): 1323-60. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b08567>.
- Patidar, Kavish R., Malcolm Sydnor, et Arun J. Sanyal. 2014. « Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt ». *Clinics in Liver Disease* 18 (4): 853-76. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2014.07.006>.
- Peng, Qingmei, Xin Zhou, Zhi Wang, Qingyi Xie, Chunfeng Ma, Guangzhao Zhang, et Xiangjun Gong. 2019. « Three-Dimensional Bacterial Motions near a Surface Investigated by Digital Holographic Microscopy: Effect of Surface Stiffness ». *Langmuir* 35 (37): 12257-63. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b02103>.
- Perera-Costa, David, José Morales Bruque, María Luisa González-Martín, Antonio Cándido Gómez-García, et Virginia Vadillo-Rodríguez. 2014. « Studying the Influence of Surface Topography on Bacterial Adhesion using Spatially Organized Microtopographic Surface Patterns ». *Langmuir* 30 (16): 4633-41. <https://doi.org/10.1021/la5001057>.
- Perlin, David S., Riina Rautemaa-Richardson, et Ana Alastruey-Izquierdo. 2017. « The Global Problem of Antifungal Resistance: Prevalence, Mechanisms, and Management ». *The Lancet. Infectious Diseases* 17 (12): e383-92. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30316-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30316-X).
- Peyrat, M. B., C. Soumet, P. Maris, et P. Sanders. 2008. « Recovery of *Campylobacter* Jejuni from Surfaces of Poultry Slaughterhouses after Cleaning and Disinfection Procedures: Analysis of a Potential Source of Carcass Contamination ». *International Journal of Food Microbiology* 124 (2): 188-94. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.030>.
- Pfaller, M. A., et D. J. Diekema. 2007. « Epidemiology of Invasive Candidiasis: A Persistent Public Health Problem ». *Clinical Microbiology Reviews* 20 (1): 133-63. <https://doi.org/10.1128/CMR.00029-06>.
- Phan-Thanh, L., F. Mahouin, et S. Aligé. 2000. « Acid Responses of *Listeria Monocytogenes* ». *International Journal of Food Microbiology* 55 (1-3): 121-26. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00167-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00167-7).

- Piozzi, A., I. Francolini, L. Occhiaperti, M. Venditti, et W. Marconi. 2004. « Antimicrobial Activity of Polyurethanes Coated with Antibiotics: A New Approach to the Realization of Medical Devices Exempt from Microbial Colonization ». *International Journal of Pharmaceutics* 280 (1-2): 173-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.05.017>.
- Ploux, Lydie, Mihaela Mateescu, Karine Anselme, et Krasimir Vasilev. 2012. « Antibacterial Properties of Silver-Loaded Plasma Polymer Coatings ». *Journal of Nanomaterials* 2012: 1-9. <https://doi.org/10.1155/2012/674145>.
- Ploux, Lydie, Mihaela Mateescu, Lise Guichaoua, Jules Valentin, Judith Böhmler, Karine Anselme, Eric Champion, Nathalie Pécout, Roxana Chotard-Ghodsnia, et Marylène Viana. 2016. « New Colloidal Fabrication of Bioceramics with Controlled Porosity for Delivery of Antibiotics ». *Journal of Materials Science* 19 (51): 8861-79. <https://doi.org/10.1007/s10853-016-0133-z>.
- Polke, Melanie, Bernhard Hube, et Ilse Jacobsen. 2015. « Candida Survival Strategies ». *Advances in Applied Microbiology* 91 (avril): 139-235. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.12.002>.
- Prakash, C. G. J., et R. Prasanth. 2020. « Approaches to design a surface with tunable wettability: a review on surface properties ». *Journal of Materials Science*, septembre, 108-35.
- Pratt, L. A., et R. Kolter. 1998. « Genetic Analysis of Escherichia Coli Biofilm Formation: Roles of Flagella, Motility, Chemotaxis and Type I Pili ». *Molecular Microbiology* 30 (2): 285-93. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.01061.x>.
- Prigent-Combaret, Claire, Gerard Prensier, Thanh Thuy Le Thi, Olivier Vidal, Philippe Lejeune, et Corinne Dorel. 2000. « Developmental Pathway for Biofilm Formation in Curli-Producing Escherichia Coli Strains: Role of Flagella, Curli and Colanic Acid ». *Environmental Microbiology* 2 (4): 450-64. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2000.00128.x>.
- Prigent-Combaret, Claire, Olivier Vidal, Corinne Dorel, et Philippe Lejeune. 1999. « Abiotic Surface Sensing and Biofilm-Dependent Regulation of Gene Expression in Escherichia coli ». *Journal of Bacteriology* 181 (19): 5993-6002.
- Purcell, E. M. 1973. « Life at Low Reynolds Number », 11.
- Q**ian, Hongchang, Minglu Li, Zhong Li, Yuntian Lou, Luyao Huang, Dawei Zhang, Dake Xu, Cuiwei Du, Lin Lu, et Jin Gao. 2017. « Mussel-Inspired Superhydrophobic Surfaces with Enhanced Corrosion Resistance and Dual-Action Antibacterial Properties ». *Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications* 80 (novembre): 566-77. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.07.002>.
- Qin, Xiao-Hua, Berna Senturk, Jules Valentin, Vera Malheiro, Giuseppino Fortunato, Qun Ren, Markus Rottmar, et Katharina Maniura-Weber. 2019. « Cell-Membrane-Inspired Silicone Interfaces that Mitigate Proinflammatory Macrophage Activation and Bacterial Adhesion ». *Langmuir* 35 (5): 1882-94. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b02292>.
- R**aad, I., W. Costerton, U. Sabharwal, M. Sacilowski, E. Anaissie, et G. P. Bodey. 1993. « Ultrastructural Analysis of Indwelling Vascular Catheters: A Quantitative Relationship between Luminal Colonization and Duration of Placement ». *The Journal of Infectious Diseases* 168 (2): 400-407. <https://doi.org/10.1093/infdis/168.2.400>.
- Raad, I. I., M. F. Sabbagh, K. H. Rand, et R. J. Sherertz. 1992. « Quantitative Tip Culture Methods and the Diagnosis of Central Venous Catheter-Related Infections ». *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 15 (1): 13-20. [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(92\)90052-u](https://doi.org/10.1016/0732-8893(92)90052-u).
- Rajendran, Ranjith, Leighann Sherry, David F. Lappin, Chris J. Nile, Karen Smith, Craig Williams, Carol A. Munro, et Gordon Ramage. 2014. « Extracellular DNA Release Confers Heterogeneity in Candida Albicans Biofilm Formation ». *BMC Microbiology* 14 (décembre): 303. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0303-6>.
- Ramage, G., K. Vandewalle, B. L. Wickes, et J. L. López-Ribot. 2001. « Characteristics of Biofilm Formation by Candida Albicans ». *Revista Iberoamericana De Micología* 18 (4): 163-70.
- Ramsook, Caleen B., Cho Tan, Melissa C. Garcia, Raymond Fung, Gregory Soybelman, Ryan Henry, Anna Litewka, et al. 2010. « Yeast Cell Adhesion Molecules Have Functional Amyloid-Forming Sequences ». *Eukaryotic Cell* 9 (3): 393-404. <https://doi.org/10.1128/EC.00068-09>.

- Rather, Philip N. 2005. « Swarmer Cell Differentiation in *Proteus Mirabilis* ». *Environmental Microbiology* 7 (8): 1065-73. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00806.x>.
- Reeser, Ryan J., Robert T. Medler, Stephen J. Billington, B. Helen Jost, et Lynn A. Joens. 2007. « Characterization of *Campylobacter Jejuni* Biofilms under Defined Growth Conditions ». *Applied and Environmental Microbiology* 73 (6): 1908-13. <https://doi.org/10.1128/AEM.00740-06>.
- Reisner, A., M. Maierl, M. Jörger, R. Krause, D. Berger, D. Haid, et E. L. Zechner. 2014. « Type 1 fimbriae contribute to catheter-associated urinary tract infections caused by *Escherichia coli* ». *Journal of Bacteriology* 196 (5): 931-39.
- Ren, Guogang, Dawei Hu, Eileen W. C. Cheng, Miguel A. Vargas-Reus, Paul Reip, et Robert P. Allaker. 2009. « Characterisation of Copper Oxide Nanoparticles for Antimicrobial Applications ». *International Journal of Antimicrobial Agents* 33 (6): 587-90. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.12.004>.
- Ren, Tingting, Mingqing Yang, Kaikai Wang, Yue Zhang, et Junhui He. 2018. « CuO Nanoparticles-Containing Highly Transparent and Superhydrophobic Coatings with Extremely Low Bacterial Adhesion and Excellent Bactericidal Property ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 10 (30): 25717-25. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b09945>.
- Rezapour Sarabi, Misagh, Nan Jiang, Ece Ozturk, Ali K. Yetisen, et Savas Tasoglu. 2021. « Biomedical Optical Fibers ». *Lab on a Chip* 21 (4): 627-40. <https://doi.org/10.1039/d0lc01155j>.
- Rhodes, John M., et Michael Simons. 2007. « The Extracellular Matrix and Blood Vessel Formation: Not Just a Scaffold ». *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 11 (2): 176-205. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2007.00031.x>.
- Rijnaarts, Huub H.M., Willem Norde, Johannes Lyklema, et Alexander J.B. Zehnder. 1999. « DLVO and steric contributions to bacterial deposition in media of different ionic strengths ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 14 (1-4): 179-95. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(99\)00035-1](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00035-1).
- Rimondini, L, M Fini, et R Giardino. 2005. « The Microbial Infection of Biomaterials: A Challenge for Clinicians and Researchers. A Short Review », 11.
- Ripert, Christian. 2013. « Mycologie médicale ». Librairie Lavoisier. 2013. <https://www.lavoisier.fr/livre/medecine/mycologie-medicale/ripert/descriptif-9782743014889>.
- Rizzello, Loris, Barbara Sorce, Stefania Sabella, Giuseppe Vecchio, Antonio Galeone, Virgilio Brunetti, Roberto Cingolani, et Pier Paolo Pompa. 2011. « Impact of Nanoscale Topography on Genomics and Proteomics of Adherent Bacteria ». *ACS Nano* 5 (3): 1865-76. <https://doi.org/10.1021/nn102692m>.
- Roberts, A. P., J. Pratten, M. Wilson, et P. Mullany. 1999. « Transfer of a Conjugative Transposon, Tn5397 in a Model Oral Biofilm ». *FEMS Microbiology Letters* 177 (1): 63-66. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13714.x>.
- Romagnoli, Marina, et Magda Belmontesi. 2008. « Hyaluronic Acid-Based Fillers: Theory and Practice ». *Clinics in Dermatology* 26 (2): 123-59. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2007.09.001>.
- Rzewuska, Magdalena, Ewelina Kwiecień, Dorota Chrobak-Chmiel, Magdalena Kizerwetter-Świda, Ilona Stefańska, et Małgorzata Gieryńska. 2019. « Pathogenicity and Virulence of *Trueperella Pyogenes*: A Review ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (11): 2737. <https://doi.org/10.3390/ijms20112737>.
- S**abtu, N., D. A. Enoch, et N. M. Brown. 2015. « Antibiotic Resistance: What, Why, Where, When and How? » *British Medical Bulletin*, octobre, ldv041. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldv041>.
- Saha, Naresh, Claire Monge, Virginie Dulong, Catherine Picart, et Karine Glinel. 2013. « Influence of Polyelectrolyte Film Stiffness on Bacterial Growth ». *Biomacromolecules* 14 (2): 520-28. <https://doi.org/10.1021/bm301774a>.
- Salo, S., et G. Wirtanen. 2005. « Disinfectant Efficacy on Foodborne Spoilage Yeast Strains ». *Food and Bioprocess Processing* 83 (4): 288-96. <https://doi.org/10.1205/fbp.04317>.

- Santé Publique France. 2018. « Consommation d'antibiotiques et antibiorésistance en France en 2018 ». 2018. <https://www.santepubliquefrance.fr/les-actualites/2019/consommation-d-antibiotiques-et-antibioresistance-en-france-en-2018>.
- — —. 2019. « Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, mai-juin 2017 », 270.
- Sardi, J. C. O., L. Scorzoni, T. Bernardi, A. M. Fusco-Almeida, et M. J. S. Mendes Giannini. 2013. « Candida Species: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal Products and New Therapeutic Options ». *Journal of Medical Microbiology* 62 (1): 10-24. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.045054-0>.
- Sassu, E. L., J. T. Bossé, T. J. Tobias, M. Gottschalk, P. R. Langford, et I. Hennig-Pauka. 2018. « Update on Actinobacillus leuropneumoniae - knowledge, gaps and challenges ». *Transboundary and Emerging Diseases*. <https://spiral.imperial.ac.uk/bitstream/10044/1/50846/2/DISCONTTOOL%20App%20Symplectic%20MT%20%2b%20Fig%20%2b%20table.pdf>.
- Schanté, Carole E., Guy Zuber, Corinne Herlin, et Thierry F. Vandamme. 2011. « Chemical Modifications of Hyaluronic Acid for the Synthesis of Derivatives for a Broad Range of Biomedical Applications ». *Carbohydrate Polymers* 85 (3): 469-89. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.03.019>.
- Scheerer, Stefanie, Otto Ortega-Morales, et Christine Gaylarde. 2009. « Microbial Deterioration of Stone Monuments—An Updated Overview ». In *Advances in Applied Microbiology*, 66:97-139. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)00805-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00805-8).
- « SCHOTT | Glass Made of Ideas ». s. d. Consulté le 23 octobre 2021. <https://www.schott.com/en-gb>.
- Schultz, M. P., J. A. Bendick, E. R. Holm, et W. M. Hertel. 2011. « Economic Impact of Biofouling on a Naval Surface Ship ». *Biofouling* 27 (1): 87-98. <https://doi.org/10.1080/08927014.2010.542809>.
- Schulze, Jürgen, et Ulrich Sonnenborn. 2009. « Yeasts in the Gut: From Commensals to Infectious Agents ». *Deutsches Arzteblatt International* 106 (51-52): 837-42. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2009.0837>.
- Schwartz, Véronique B., Franck Thétiot, Sandra Ritz, Sabine Pütz, Lars Choritz, Alexandros Lappas, Renate Förch, Katharina Landfester, et Ulrich Jonas. 2012. « Antibacterial Surface Coatings from Zinc Oxide Nanoparticles Embedded in Poly(N-Isopropylacrylamide) Hydrogel Surface Layers ». *Advanced Functional Materials* 22 (11): 2376-86. <https://doi.org/10.1002/adfm.201102980>.
- Schwibbert, Karin, Friederike Menzel, Nadja Epperlein, Jörn Bonse, et Jörg Krüger. 2019. « Bacterial Adhesion on Femtosecond Laser-Modified Polyethylene ». *Materials* 12 (19): 3107. <https://doi.org/10.3390/ma12193107>.
- Scott, John E. 1995. « Extracellular Matrix, Supramolecular Organisation and Shape ». *J Anat.* 187 (Pt 2): 259-69.
- Sellam, Adnane, Thamir Al-Niemi, Kathleen McInnerney, Susan Brumfield, Andre Nantel, et Peter A. Suci. 2009. « A Candida Albicans Early Stage Biofilm Detachment Event in Rich Medium ». *BMC Microbiology* 9 (février): 25. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-25>.
- Semmler, A. B., C. B. Whitchurch, et J. S. Mattick. 1999. « A Re-Examination of Twitching Motility in Pseudomonas Aeruginosa ». *Microbiology (Reading, England)* 145 ( Pt 10) (octobre): 2863-73. <https://doi.org/10.1099/00221287-145-10-2863>.
- Shen, Jie, Peng Gao, Shan Han, Richard Y. T. Kao, Shuilin Wu, Xuanyong Liu, Shi Qian, Paul K. Chu, Kenneth M. C. Cheung, et Kelvin W. K. Yeung. 2020. « A Tailored Positively-Charged Hydrophobic Surface Reduces the Risk of Implant Associated Infections ». *Acta Biomaterialia* 114 (septembre): 421-30. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.07.040>.
- Sheng, Xiaoxia, Yen Peng Ting, et Simo Olavi Pehkonen. 2008a. « The Influence of Ionic Strength, Nutrients and PH on Bacterial Adhesion to Metals ». *Journal of Colloid and Interface Science* 321 (2): 256-64. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.02.038>.

- Sheppard, D. C., M. R. Yeaman, W. H. Welch, Q. T. Phan, Yue Fu, A. S. Ibrahim, S. G. Filler, M. Zhang, A. Waring, et J. E. Edward. 2004. « Functional and structural diversity in the Als protein family of *Candida albicans* ». *Journal of Biological Chemistry* 279 (29): <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15128742/>.
- Siddiqui, Sanya, Arvind Chandrasekaran, Nicholas Lin, Nathalie Tufenkji, et Christopher Moraes. 2019. « Microfluidic Shear Assay to Distinguish between Bacterial Adhesion and Attachment Strength on Stiffness-Tunable Silicone Substrates ». *Langmuir* 35 (26): 8840-49. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b00803>.
- Silva, Sónia, Melyssa Negri, Mariana Henriques, Rosário Oliveira, David W. Williams, et Joana Azeredo. 2012. « *Candida Glabrata*, *Candida Parapsilosis* and *Candida Tropicalis*: Biology, Epidemiology, Pathogenicity and Antifungal Resistance ». *FEMS Microbiology Reviews* 36 (2): 288-305. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>.
- Simkovic, I. 1999. « Preparation of water-soluble/insoluble derivatives of hyaluronic acid by cross-linking with epichlorohydrin in aqueous NaOH/NH<sub>4</sub>OH solution ». 1999. [http://www.uef.sav.sk/Soltes\\_PDF/2000%20Carbohydr.Polym.%20-%20Simkovic.pdf](http://www.uef.sav.sk/Soltes_PDF/2000%20Carbohydr.Polym.%20-%20Simkovic.pdf).
- Skerker, Jeffrey M., et Howard C. Berg. 2001. « Direct Observation of Extension and Retraction of Type IV Pili ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (12): 6901-4. <https://doi.org/10.1073/pnas.121171698>.
- Soldatos, Nikolaos K., Popi Stylianou, Vasiliki P. Koidou, Nikola Angelov, Raymond Yukna, et Georgios E. Romanos. 2017. « Limitations and Options Using Resorbable versus Nonresorbable Membranes for Successful Guided Bone Regeneration ». *Quintessence International (Berlin, Germany: 1985)* 48 (2): 131-47. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a37133>.
- Song, Fangchao, Megan E. Brasch, Hao Wang, James H. Henderson, Karin Sauer, et Dacheng Ren. 2017. « How Bacteria Respond to Material Stiffness during Attachment: A Role of *Escherichia Coli* Flagellar Motility ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 9 (27): 22176-84. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b04757>.
- Song, Fangchao, et Dacheng Ren. 2014. « Stiffness of Cross-Linked Poly(Dimethylsiloxane) Affects Bacterial Adhesion and Antibiotic Susceptibility of Attached Cells ». *Langmuir* 30 (34): 10354-62. <https://doi.org/10.1021/la502029f>.
- Song, Fangchao, Hao Wang, Karin Sauer, et Dacheng Ren. 2018. « Cyclic-Di-GMP and OprF Are Involved in the Response of *Pseudomonas Aeruginosa* to Substrate Material Stiffness during Attachment on Polydimethylsiloxane (PDMS) ». *Frontiers in Microbiology* 9 (février): 110. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00110>.
- Song, Kwanwoo, Jinwook Lee, Seong-O. Choi, et Jooyoun Kim. 2019. « Interaction of Surface Energy Components between Solid and Liquid on Wettability, and Its Application to Textile Anti-Wetting Finish ». *Polymers* 11 (3): E498. <https://doi.org/10.3390/polym11030498>.
- Soonthornchai, Wipasiri, Sage Chaiyapechara, Padermsak Jarayabhand, Kenneth Söderhäll, et Pikul Jiravanichpaisal. 2015. « Interaction of *Vibrio* Spp. with the Inner Surface of the Digestive Tract of *Penaeus Monodon* ». Édité par George Dimopoulos. *PLOS ONE* 10 (8): e0135783. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135783>.
- Sperandio, V., A. G. Torres, J. A. Girón, et J. B. Kaper. 2001. « Quorum Sensing Is a Global Regulatory Mechanism in Enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157:H7 ». *Journal of Bacteriology* 183 (17): 5187-97. <https://doi.org/10.1128/JB.183.17.5187-5197.2001>.
- Sreekantan, Srimala, Mohd Hassan, Satisvar Sundera Murthe, et Azman Seenii. 2020. « Biocompatibility and Cytotoxicity Study of Polydimethylsiloxane (PDMS) and Palm Oil Fuel Ash (POFA) Sustainable Super-Hydrophobic Coating for Biomedical Applications ». *Polymers* 12 (12): 3034. <https://doi.org/10.3390/polym12123034>.
- Srey, S., I. K. Jahid, et S. D. Ha. 2013. « Biofilm formation in food industries: A food safety concern ». *ScienceDirect*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713512006536>.
- Sta Apolónia, Bragança, Portugal, andrews.va.souza@alunos.ipb.pt, Andrews Victor, João Ribeiro, Campus Sta Apolónia;Bragança;Portugal; jribeiro@ipb.pt, Fernando F. Araújo, et CEFET/RJ Campus Angra dos Reis;Rio de Janeiro;Brasil; fernando.araujo@cefet-rj.br. 2019. « Study of

- PDMS Characterization and Its Applications in Biomedicine: A Review ». *Journal of Mechanical Engineering and Biomechanics* 4 (1): 1-9. <https://doi.org/10.24243/JMEB/4.1.163>.
- Statz, Andrea R., Jong Pil Park, Nathaniel P. Chongsiriwatana, Annelise E. Barron, et Phillip B. Messersmith. 2008. « Surface-immobilized antimicrobial peptoids ». *Biofouling* 24 (6): 439-48. <https://doi.org/10.1080/08927010802331829>.
- Stein, Kelli, Julie Farmer, Sonica Singhal, Fawziah Marra, Susan Sutherland, et Carlos Quiñonez. 2018. « The Use and Misuse of Antibiotics in Dentistry ». *The Journal of the American Dental Association* 149 (10): 869-884.e5. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2018.05.034>.
- Stelzner, A. 1990. « Candida and Candidosis, A Review and Bibliography ». *Journal of Basic Microbiology* 30 (5): 382-83. <https://doi.org/10.1002/jobm.3620300522>.
- Stevens, C. 1998. « Environmental Fate and Effects of Dimethicone and Cyclotetrasiloxane from Personal Care Applications ». *International Journal of Cosmetic Science* 20 (5): 296-304. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2494.1998.181595.x>.
- Stickler, D. 1996. « Bacterial biofilms and the encrustation of urethral catheters ». *Biofouling* 9 (4). <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927019609378311>.
- Straub, Hervé, Claudio M. Bigger, Jules Valentin, Dominik Abt, Xiao-Hua Qin, Leo Eberl, Katharina Maniura-Weber, et Qun Ren. 2019. « Bacterial Adhesion on Soft Materials: Passive Physicochemical Interactions or Active Bacterial Mechanosensing? » *Advanced Healthcare Materials* 8 (8): 1801323. <https://doi.org/10.1002/adhm.201801323>.
- Stubbings, William, et Harald Labischinski. 2009. « New Antibiotics for Antibiotic-Resistant Bacteria ». *F1000 Biology Reports* 1 (mai). <https://doi.org/10.3410/B1-40>.
- Sudbery, Peter, Neil Gow, et Judith Berman. 2004. « The Distinct Morphogenic States of Candida Albicans ». *Trends in Microbiology* 12 (7): 317-24. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.05.008>.
- Sulaeman, S., G. Le Bihan, A. Rossero, M. Federighi, E. Dé, et O. Tresse. 2010. « Comparison between the Biofilm Initiation of Campylobacter Jejuni and Campylobacter Coli Strains to an Inert Surface Using BioFilm Ring Test ». *Journal of Applied Microbiology* 108 (4): 1303-12. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04534.x>.
- Sundstrom, P. 1999. « Adhesins in Candida Albicans ». *Current Opinion in Microbiology* 2 (4): 353-57. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(99\)80062-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(99)80062-9).
- Sutherland, I. 2001. « Biofilm Exopolysaccharides: A Strong and Sticky Framework ». *Microbiology (Reading, England)* 147 (Pt 1): 3-9. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-1-3>.
- Svensson, Lovisa, Susanne Säve, et Katarina Persson. 2009. « The Effect of Nitric Oxide on Adherence of P-Fimbriated Uropathogenic Escherichia Coli to Human Renal Epithelial Cells: NITRIC OXIDE AND ADHERENCE OF UPEC TO HUMAN RENAL EPITHELIAL CELLS ». *BJU International* 105 (12): 1726-31. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.08986.x>.
- Szekalska, Marta, Magdalena Wróblewska, Monika Trofimiuk, Anna Basa, et Katarzyna Winnicka. 2019. « Alginate Oligosaccharides Affect Mechanical Properties and Antifungal Activity of Alginate Buccal Films with Posaconazole ». *Marine Drugs* 17 (12): 692. <https://doi.org/10.3390/md17120692>.
- T**anaka, Masaru, Akira Mochizuki, Naoki Ishii, Tadahiro Motomura, et Tatsuko Hatakeyama. 2002. « Study of Blood Compatibility with Poly(2-Methoxyethyl Acrylate). Relationship between Water Structure and Platelet Compatibility in Poly(2-Methoxyethylacrylate- Co -2-Hydroxyethylmethacrylate) ». *Biomacromolecules* 3 (1): 36-41. <https://doi.org/10.1021/bm010072y>.
- Tanaka, Masaru, Tadahiro Motomura, Naoki Ishii, Kenichi Shimura, Makoto Onishi, Akira Mochizuki, et Tatsuko Hatakeyama. 2000. « Cold Crystallization of Water in Hydrated Poly(2-Methoxyethyl Acrylate) (PMEA) ». *Polym Int*, 5.
- Tanaka, Motomu, et Erich Sackmann. 2005. « Polymer-Supported Membranes as Models of the Cell Surface ». *Nature* 437 (7059): 656-63. <https://doi.org/10.1038/nature04164>.
- Tang, Meixian, Chen Chen, Jieru Zhu, Harry R. Allcock, Christopher A. Siedlecki, et Li-Chong Xu. 2021. « Inhibition of Bacterial Adhesion and Biofilm Formation by a Textured Fluorinated



- Alkoxyphosphazene Surface ». *Bioactive Materials* 6 (2): 447-59. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.08.027>.
- Tegoulia, Vassiliki A., et Stuart L. Cooper. 2002. « Staphylococcus Aureus Adhesion to Self-Assembled Monolayers: Effect of Surface Chemistry and Fibrinogen Presence ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 3-4 (24): 217-28.
- Teh, Amy Huei Teen, Sui Mae Lee, et Gary A. Dykes. 2014. « Does Campylobacter Jejuni Form Biofilms in Food-Related Environments? » Édité par T. K. Wood. *Applied and Environmental Microbiology* 80 (17): 5154-60. <https://doi.org/10.1128/AEM.01493-14>.
- Teunissen, A. W., et H. Y. Steensma. 1995. « Review: The Dominant Flocculation Genes of Saccharomyces Cerevisiae Constitute a New Subtelomeric Gene Family ». *Yeast (Chichester, England)* 11 (11): 1001-13. <https://doi.org/10.1002/yea.320111102>.
- Thomen, Philippe, Jérôme Robert, Amaury Monmeyran, Anne-Florence Bitbol, Carine Douarche, et Nelly Henry. 2017. « Bacterial biofilm under flow: First a physical struggle to stay, then a matter of breathing ». *PLoS ONE* 12 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175197>.
- Thompson, Delma S., Patricia L. Carlisle, et David Kadosh. 2011. « Coevolution of Morphology and Virulence in Candida Species ». *Eukaryotic Cell* 10 (9): 1173-82. <https://doi.org/10.1128/EC.05085-11>.
- Tien, Janet Y.L., et Andrew P. Spicer. 2005. « Three Vertebrate Hyaluronan Synthases Are Expressed during Mouse Development in Distinct Spatial and Temporal Patterns ». *Developmental Dynamics* 233 (1): 130-41. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20328>.
- Tremblay, Yannick D N, Skander Hathroubi, et Mario Jacques. 2014. « Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique », 7.
- Tsui, Christina, Eric F. Kong, et Mary Ann Jabra-Rizk. 2016. « Pathogenesis of Candida Albicans Biofilm ». Édité par Harry Mobley. *Pathogens and Disease* 74 (4): ftw018. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw018>.
- Tunney, M. M., D. S. Jones, et S. P. Gorman. 1999. « Biofilm and Biofilm-Related Encrustation of Urinary Tract Devices ». *Methods in Enzymology* 310: 558-66. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)10043-0](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)10043-0).
- U**eshima, M., S. Tanaka, S. Nakamura, et K. Yamashita. 2002. « Manipulation of bacterial adhesion and proliferation by surface charges of electrically polarized hydroxyapatite ». *Journal of Biomedical Materials Research* 60 (4): 578-84.
- V**alentin, Jules D.P., Xiao-Hua Qin, Claudia Fessele, Hervé Straub, Henny C. van der Mei, Matthias T. Buhmann, Katharina Maniura-Weber, et Qun Ren. 2019. « Substrate Viscosity Plays an Important Role in Bacterial Adhesion under Fluid Flow ». *Journal of Colloid and Interface Science* 552 (septembre): 247-57. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.05.043>.
- Van Houdt, Rob, et Chris W. Michiels. 2005. « Role of Bacterial Cell Surface Structures in Escherichia Coli Biofilm Formation ». *Research in Microbiology* 156 (5-6): 626-33. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.02.005>.
- Vargas-Blanco, Diego, Aung Lynn, Rony Noreldin, Anthony Salerni, Christopher Lambert, et Reeta P. Rao. 2017. « A pre-therapeutic coating for medical devices that prevents the attachment of Candida albicans ». *Clinical Microbiology and Antimicrobials* 41 (mai). <https://annclinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12941-017-0215-z>.
- Vasudevan, Ravikumar, Alan J. Kennedy, Megan Merritt, Fiona H. Crocker, et Ronald H. Baney. 2014. « Microscale Patterned Surfaces Reduce Bacterial Fouling-Microscopic and Theoretical Analysis ». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 117 (mai): 225-32. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.037>.
- Vatansver, Cansu, et Irfan Türetgen. 2018. « Investigating the effects of different physical and chemical stress factors on microbial biofilm ». *Water S.A* 44 (avril): 308-17. <https://doi.org/10.4314/wsa.v44i2.16>.
- Vediyappan, Govindsamy, Tristan Rossignol, et Christophe d'Enfert. 2010. « Interaction of Candida Albicans Biofilms with Antifungals: Transcriptional Response and Binding of Antifungals to

- Beta-Glucans ». *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54 (5): 2096-2111. <https://doi.org/10.1128/AAC.01638-09>.
- Veerachamy, Suganthan, Tejasri Yarlagadda, Geetha Manivasagam, et Prasad Kdv Yarlagadda. 2014. « Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: a review ». *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H, Journal of engineering in medicine* 228 (10): 1083-99. <https://doi.org/10.1177/0954411914556137>.
- Venkatesan, Nandakumar, Govindaraj Perumal, et Mukesh Doble. 2015. « Bacterial Resistance in Biofilm-Associated Bacteria ». *Future Microbiology* 10 (11): 1743-50. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.69>.
- Verdier, T., M. Coutand, A. Berton, et C. Roques. 2014. « Antibacterial Activity of TiO<sub>2</sub> Photocatalyst Alone or in Coatings on E. coli: The Influence of Methodological Aspects ». *Coatings* 4 (3): 670-86.
- Verran, Joanna, et Christopher J. Maryan. 1997. « Retention of Candida Albicans on Acrylic Resin and Silicone of Different Surface Topography ». *The Journal of Prosthetic Dentistry* 77 (5): 535-39. [https://doi.org/10.1016/S0022-3913\(97\)70148-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3913(97)70148-3).
- Verwey, E. J. W., et J. T. G. Overbeek. 1948. « Theory of the stability of lyophobic colloids. The interaction of particles having an electric double layer ». *Journal of Polymer Science*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pol.1949.120040321>.
- Vogeleer, Philippe, Yannick D. N. Tremblay, Akier A. Mafu, Mario Jacques, et Josée Harel. 2014. « Life on the Outside: Role of Biofilms in Environmental Persistence of Shiga-Toxin Producing Escherichia Coli ». *Frontiers in Microbiology* 5: 317. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00317>.
- W**ang, Peng-Yuan, Wei-Bor Tsai, et Nicolas H. Voelcker. 2012. « Screening of Rat Mesenchymal Stem Cell Behaviour on Polydimethylsiloxane Stiffness Gradients ». *Acta Biomaterialia* 8(2): 519-30. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.09.030>.
- Wang, Yi, Allan Guan, Irada Isayeva, Katherine Vorvolakos, Srilekha Das, Zhenyu Li, et K. Scott Phillips. 2016. « Interactions of Staphylococcus Aureus with Ultrasoft Hydrogel Biomaterials ». *Biomaterials* 95 (juillet): 74-85. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.04.005>.
- Watson, Gregory S., Bronwen W. Cribb, et Jolanta A. Watson. 2010. « How Micro/Nanoarchitecture Facilitates Anti-Wetting: An Elegant Hierarchical Design on the Termite Wing ». *ACS Nano* 4 (1): 129-36. <https://doi.org/10.1021/nn900869b>.
- Watson, Gregory S., David W. Green, Lin Schwarzkopf, Xin Li, Bronwen W. Cribb, Sverre Myhra, et Jolanta A. Watson. 2015. « A Gecko Skin Micro/Nano Structure – A Low Adhesion, Superhydrophobic, Anti-Wetting, Self-Cleaning, Biocompatible, Antibacterial Surface ». *Acta Biomaterialia* 21 (juillet): 109-22. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.03.007>.
- Weaver, Westbrook M., Vladana Milisavljevic, Jeff F. Miller, et Dino Di Carlo. 2012. « Fluid Flow Induces Biofilm Formation in Staphylococcus Epidermidis Polysaccharide Intracellular Adhesin-Positive Clinical Isolates ». *Applied and Environmental Microbiology* 78 (16): 5890-96. <https://doi.org/10.1128/AEM.01139-12>.
- Webber, Bruna, Amauri Picollo de Oliveira, Emanuele Serro Pottker, Luciane Daroit, Rafael Levandowski, Luciana Ruschel dos Santos, Vladimir Pinheiro do Nascimento, et Laura Beatriz Rodrigues. 2019. « Salmonella Enteritidis Forms Biofilm under Low Temperatures on Different Food Industry Surfaces ». *Ciência Rural* 49 (juillet). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20181022>.
- Wei, Ting, Zengchao Tang, Qian Yu, et Hong Chen. 2017. « Smart Antibacterial Surfaces with Switchable Bacteria-Killing and Bacteria-Releasing Capabilities ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 9 (43): 37511-23. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b13565>.
- Wenzel, Richard P. 2007. « Health Care-Associated Infections: Major Issues in the Early Years of the 21st Century ». *Clinical Infectious Diseases* 45 (Supplement\_1): S85-88. <https://doi.org/10.1086/518136>.

- Westen, Rebecca van der, Jelmer Sjollema, Robert Molenaar, Prashant K. Sharma, Henny C. van der Mei, et Henk J. Busscher. 2018. « Floating and Tether-Coupled Adhesion of Bacteria to Hydrophobic and Hydrophilic Surfaces ». *Langmuir* 34 (17): 4937-44. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b04331>.
- Whitchurch, Cynthia B., Tim Tolker-Nielsen, Paula C. Ragas, et John S. Mattick. 2002. « Extracellular DNA Required for Bacterial Biofilm Formation ». *Science (New York, N.Y.)* 295 (5559): 1487. <https://doi.org/10.1126/science.295.5559.1487>.
- Whitehead, K. A., et J. Verran. 2006. « The Effect of Surface Topography on the Retention of Microorganisms ». *Food and Bioprocess Technology*, Fouling, Cleaning and Disinfection in Food Processing, 84 (4): 253-59. <https://doi.org/10.1205/fbp06035>.
- Wiencek, K. M., et M. Fletcher. 1995. « Bacterial Adhesion to Hydroxyl- and Methyl-Terminated Alkanethiol Self-Assembled Monolayers ». *Journal of Bacteriology* 177 (8): 1959-66. <https://doi.org/10.1128/JB.177.8.1959-1966.1995>.
- Williams, Paul. 2007. « Quorum Sensing, Communication and Cross-Kingdom Signalling in the Bacterial World ». *Microbiology (Reading, England)* 153 (Pt 12): 3923-38. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/012856-0>.
- Williams, Paul, Klaus Winzer, Weng C Chan, et Miguel Cámara. 2007. « Look Who's Talking: Communication and Quorum Sensing in the Bacterial World ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 362 (1483): 1119-34. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2039>.
- Woltman, Scott J., Gregory D. Jay, et Gregory P. Crawford. 2007. « Liquid-Crystal Materials Find a New Order in Biomedical Applications ». *Nature Materials* 6 (12): 929-38. <https://doi.org/10.1038/nmat2010>.
- Wongsuk, Thanwa, Potjaman Pumeesat, et Natthanej Luplertlop. 2016. « Fungal Quorum Sensing Molecules: Role in Fungal Morphogenesis and Pathogenicity ». *Journal of Basic Microbiology* 56 (5): 440-47. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500759>.
- Wu, Hong, Claus Moser, Heng-Zhuang Wang, Niels Høiby, et Zhi-Jun Song. 2015. « Strategies for Combating Bacterial Biofilm Infections ». *International Journal of Oral Science* 7 (1): 1-7. <https://doi.org/10.1038/ijos.2014.65>.
- Wu, Songmei, Stefanie Altenried, Andi Zogg, Flavia Zuber, Katharina Maniura-Weber, et Qun Ren. 2018. « Role of the Surface Nanoscale Roughness of Stainless Steel on Bacterial Adhesion and Microcolony Formation ». *ACS Omega* 3 (6): 6456-64. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00769>.
- Wu, Songze, Botao Zhang, Yi Liu, Xinkun Suo, et Hua Li. 2018. « Influence of Surface Topography on Bacterial Adhesion: A Review (Review) ». *Biointerphases* 13 (6): 060801. <https://doi.org/10.1116/1.5054057>.
- Xing, Rui, Ståle P. Lyngstadaas, Jan Eirik Ellingsen, Sébastien Taxt-Lamolle, et Håvard J. Haugen. 2015. « The Influence of Surface Nanoroughness, Texture and Chemistry of TiZr Implant Abutment on Oral Biofilm Accumulation ». *Clinical Oral Implants Research* 26 (6): 649-56. <https://doi.org/10.1111/clr.12354>.
- Xu, Li-Chong, et Christopher A. Siedlecki. 2017. « Protein Adsorption, Platelet Adhesion, and Bacterial Adhesion to Polyethylene-Glycol-Textured Polyurethane Biomaterial Surfaces ». *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials* 105 (3): 668-78. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33592>.
- Xue, Chao-Hua, Xing Li, Shun-Tian Jia, Xiao-Jing Guo, et Min Li. 2016. « Fabrication of Robust Superhydrophobic Fabrics Based on Coating with PVDF/PDMS ». *RSC Advances* 6 (88): 84887-92. <https://doi.org/10.1039/C6RA11508J>.
- Xue, Kun, Zengping Liu, Lu Jiang, Dan Kai, Zhibiao Li, Xinyi Su, et Xian Jun Loh. 2020. « A New Highly Transparent Injectable PHA-Based Thermogelling Vitreous Substitute ». *Biomaterials Science* 8 (3): 926-36. <https://doi.org/10.1039/c9bm01603a>.

- Yan, H., H. Frielinghaus, A. Nykanen, J. Ruokolainen, A. Saiani, et A. F. Miller. 2008. « Thermoreversible Lysozyme Hydrogels: Properties and an Insight into the Gelation Pathway ». *Soft Matter* 4 (6): 1313-25. <https://doi.org/10.1039/B716966C>.
- Yang, Meng, Yonghui Ding, Xiang Ge, et Yang Leng. 2015. « Control of Bacterial Adhesion and Growth on Honeycomb-like Patterned Surfaces ». *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces* 135 (novembre): 549-55. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.08.010>.
- Yao, Wan-Ling, Jerry Chin Yi Lin, Eisner Salamanca, Yu-Hwa Pan, Pei-Yo Tsai, Sy-Jye Leu, Kai-Chiang Yang, Haw-Ming Huang, Huei-Yu Huang, et Wei-Jen Chang. 2020. « Er,Cr:YSGG Laser Performance Improves Biological Response on Titanium Surfaces ». *Materials (Basel, Switzerland)* 13 (3): E756. <https://doi.org/10.3390/ma13030756>.
- Yin, Wen, Yiting Wang, Lu Liu, et Jin He. 2019. « Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (14): 3423. <https://doi.org/10.3390/ijms20143423>.
- Yoda, Itaru, Hironobu Koseki, Masato Tomita, Takayuki Shida, Hidehiko Horiuchi, Hideyuki Sakoda, et Makoto Osaki. 2014. « Effect of surface roughness of biomaterials on Staphylococcus epidermidis adhesion ». *BMC Microbiology* 14 (1): 234. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0234-2>.
- Yu, L, K K Lee, K Ens, P C Doig, M R Carpenter, W Staddon, R S Hodges, W Paranchych, et R T Irvin. 1994. « Partial Characterization of a Candida Albicans Fimbrial Adhesin. ». *Infection and Immunity* 62 (7): 2834-42. <https://doi.org/10.1128/IAI.62.7.2834-2842.1994>.
- Yu, Pei, Chuanyong Wang, Jinglin Zhou, Li Jiang, Jing Xue, et Wei Li. 2016. « Influence of Surface Properties on Adhesion Forces and Attachment of Streptococcus mutans to Zirconia In Vitro ». *BioMed Research International* 2016: 8901253. <https://doi.org/10.1155/2016/8901253>.
- Yu, Wenying, Qiao Han, Xueying Song, Jiaojiao Fu, Haiquan Liu, Zhuoran Guo, Pradeep K. Malakar, Yingjie Pan, et Yong Zhao. 2018. « Cold Shock Fail to Restrain Pre-Formed Bacterial Biofilm ». <https://doi.org/10.1101/324749>.
- Zanotti, Bruno, Nicola Zingaretti, Angela Verlicchi, Massimo Robiony, Alex Alfieri, et Pier Camillo Parodi. 2016. « Cranioplasty: Review of Materials ». *The Journal of Craniofacial Surgery* 27 (8): 2061-72. <https://doi.org/10.1097/SCS.0000000000003025>.
- Zara, Giacomo, Marilena Budroni, Ilaria Mannazzu, Francesco Fancello, et Severino Zara. 2020. « Yeast Biofilm in Food Realms: Occurrence and Control ». *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 36 (9): 134. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02911-5>.
- Zarnowski, Robert, William M. Westler, Ghislain Ade Lacmouh, Jane M. Marita, Jameson R. Bothe, Jörg Bernhardt, Anissa Lounes-Hadj Sahaoui, et al. 2014. « Novel Entries in a Fungal Biofilm Matrix Encyclopedia ». Édité par Jose Lopez-Ribot et Judith Berman. *MBio* 5 (4). <https://doi.org/10.1128/mBio.01333-14>.
- Zawko, S, S Suri, Q Truong, et C Schmidt. 2009. « Photopatterned Anisotropic Swelling of Dual-Crosslinked Hyaluronic Acid Hydrogels ». *Acta Biomaterialia* 5 (1): 14-22. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.09.012>.
- Zhao, Xiaomin, Karla J. Daniels, Soon-Hwan Oh, Clayton B. Green, Kathleen M. Yeater, David R. Soll, et Lois L. Hoyer. 2006. « Candida Albicans Als3p Is Required for Wild-Type Biofilm Formation on Silicone Elastomer Surfaces ». *Microbiology (Reading, England)* 152 (Pt 8): 2287-99. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28959-0>.
- Zhao, Xihong, Fenghuan Zhao, Jun Wang, et Nanjing Zhong. 2017. « Biofilm Formation and Control Strategies of Foodborne Pathogens: Food Safety Perspectives ». *RSC Advances* 7 (58): 36670-83. <https://doi.org/10.1039/C7RA02497E>.
- Zheng, Jie, Lingyan Li, Heng-Kwong Tsao, Yu-Jane Sheng, Shenfu Chen, et Shaoyi Jiang. 2005. « Strong Repulsive Forces between Protein and Oligo (Ethylene Glycol) Self-Assembled Monolayers: A Molecular Simulation Study ». *Biophysical Journal* 89 (1): 158-66. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.059428>.

- Zheng, Sherry, Marwa Bawazir, Atul Dhall, Hye-Eun Kim, Le He, Joseph Heo, et Geelsu Hwang. 2021. « Implication of Surface Properties, Bacterial Motility, and Hydrodynamic Conditions on Bacterial Surface Sensing and Their Initial Adhesion ». *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9 (février): 643722. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.643722>.
- Zhu, Junmin. 2010. « Bioactive Modification of Poly(Ethylene Glycol) Hydrogels for Tissue Engineering ». *Biomaterials* 31 (17): 4639-56. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.02.044>.
- Zhu, Xiaoying, Dominik Jańczewski, Shifeng Guo, Serina Siew Chen Lee, Fernando Jose Parra Velandia, Serena Lay-Ming Teo, Tao He, Sreenivasa Reddy Puniredd, et G. Julius Vancso. 2015. « Polyion Multilayers with Precise Surface Charge Control for Antifouling ». *ACS Applied Materials & Interfaces* 7 (1): 852-61. <https://doi.org/10.1021/am507371a>.
- Zhu, Zhu, Yin-Min Wang, Jun Yang, et Xu-Song Luo. 2017. « Hyaluronic Acid: A Versatile Biomaterial in Tissue Engineering ». *Plastic and Aesthetic Research* 4 (décembre): 219-27. <https://doi.org/10.20517/2347-9264.2017.71>.
- Zolk, M., F. Eisert, J. Pipper, S. Herrwerth, W. Eck, M. Buck, et M. Grunze. 2000. « Solvation of Oligo(Ethylene Glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers Studied by Vibrational Sum Frequency Spectroscopy ». *Langmuir* 16 (14): 5849-52. <https://doi.org/10.1021/la0003239>.



**Effet des propriétés mécaniques sur l'adhésion de microorganismes : comportement et réponse biologique d'*Escherichia coli* et de *Candida albicans* sur des biomatériaux hydratés et non hydratés de différentes élasticités**

**Résumé**

L'adhésion de microorganismes sur des surfaces est un phénomène crucial pour le développement de biomatériaux et l'ingénierie tissulaire. L'objectif de cette thèse est de déterminer l'influence de l'élasticité et de l'hydratation du substrat sur l'adhésion de microorganismes. Les résultats montrent que l'adhésion des bactéries (*Escherichia coli*), ainsi que la formation de biofilm, est limitée sur les substrats hydratés (hydrogels d'acide hyaluronique) mous (44 Pa) et sur les substrats non-hydratés (polydiméthylsiloxane, PDMS) durs (574 kPa). De plus, l'analyse du protéome confirme que l'adhésion est plus avancée sur les matériaux non hydratés, notamment le plus mou, que sur les matériaux hydratés. En outre, l'analyse de la mobilité des bactéries montre que des sous-populations confinées, libres, mobiles ou quasi-immobiles coexistent sur tous les matériaux, et que leur importance relative varie d'un matériau à l'autre. La morphologie des levures (*Candida albicans*) est également impactée par les propriétés mécaniques du substrat. Nos résultats montrent que l'élasticité de surface peut être optimisée pour limiter la formation de biofilm, mais que son effet peut être contrebalancé par celui de l'hydratation.

**Mots clés :** élasticité de surface, hydratation, PDMS, acide hyaluronique, mobilité et biofilm bactérien, adhésion bactérienne et fongique, analyse protéomique

**Résumé en anglais**

The microorganism's adhesion to surfaces is an essential phenomenon for the design of biomaterials and tissue engineering. The objective of this thesis is to determine the influence of elasticity and hydration on the adhesion of microorganisms. The results show that the adhesion of bacteria (*Escherichia coli*), as well as the biofilm formation, is limited on soft hydrated substrates (hyaluronic acid hydrogels) (44 Pa) and on stiff non-hydrated substrates (polydimethylsiloxane, PDMS) (574 kPa). Additionally, proteome analysis confirms that adhesion is more advanced on non-hydrated materials, especially the softest ones, than on hydrated materials. Moreover, the analysis of the mobility of bacteria shows that confined, free, mobile or almost immobile subpopulations coexist on all materials and that their relative importance varies from one material to another. The morphology of yeasts (*Candida albicans*) is also impacted by the mechanical properties of the substrate. Our results show that the surface elasticity can be optimized to limit the biofilm formation, but that its effect can be counterbalanced by the hydration.

**Keys words:** surface elasticity, hydration, PDMS, hyaluronic acid, biofilm and bacteria mobility, bacterial and fungal adhesion, proteomic analysis