

Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines



As soon as a surface area is immersed in a fluid, it can be colonised by micro-organisms and then be covered by a biofilm. The biofilms formation is a major preoccupation in medicine, as well as in the food industry as it could lead to substantial economic losses. The description and purification of new molecules, preventing or inhibiting the formation of biofilms are, therefore, of major interest. Two bacterial strains, *Pseudoalteromonas* sp. 3J6 and *Pseudoalteromonas* sp. D41 have been shown to have an inhibitory effect on the development of biofilms from other bacteria. The study involved, firstly, optimizing the production of inhibitory molecules and describing their scope of action and their effects. Secondly, these molecules were partially purified. In order to screen and evaluate the antibiofilm activity of molecules produced in 3J6 and D41 culture supernatants on a large number of bacteria and samples, a 96-well microtiter-plate test was set up. This bioassay was adapted and optimized for bacterial adhesion and biofilm growth studies. We demonstrated that the optimal culture conditions for the production of inhibitory molecules by 3J6 and D41 were the following: 24 h and 12 h of culture in VNSS medium at 25°C respectively. We also showed that these antibiofilm molecules have a wide range of activities, inhibiting the formation of biofilm in 13 out of the 19 different strains under study. Moreover, we also noted that the activity spectra of 3J6 and D41 are not identical in 4 of the sensitive strains, suggesting that different molecules may have been produced. In fact, the 3J6 and D41 antibiofilm molecules do not have any bactericidal effects on planktonic bacteria, but they reduce the biomass and the thickness of biofilms and/or restrict the viability of their constituent bacteria. However, only the molecules produced by D41 have an inhibitory effect on bacterial adhesion. The purification of inhibitory molecules, partly from protein origin, was carried out using crude supernatants. As these molecules displayed different properties, two different techniques were employed. By using reversed phase chromatography C18 for 3J6 antibiofilm molecules, it was possible to associate the inhibitory activity with molecules of less than 10 kDa in molecular weight, primarily peptides. By combining anion-exchange chromatography and gel-filtration chromatography for D41 antibiofilm molecules, several proteins of around 100 kDa molecular mass were purified. Dès qu'une surface est immergée dans un fluide, elle peut être colonisée par des microorganismes et être recouverte d'un biofilm. La formation des biofilms est une préoccupation majeure en médecine, mais aussi en agroalimentaire et dans le secteur industriel car pouvant engendrer des pertes économiques. La description et la purification de nouvelles molécules visant à prévenir ou à éradiquer la formation de biofilm est donc d'un intérêt majeur. Deux souches bactériennes, *Pseudoalteromonas* sp. 3J6 et *Pseudoalteromonas* sp. D41, ont montré un effet inhibiteur du développement de biofilms d'autres bactéries. Le travail effectué a consisté dans un premier temps à optimiser la production des molécules inhibitrices, et à décrire leur spectre d'action et leurs effets. Puis, dans un second temps, nous avons partiellement purifié ces molécules. Pour quantifier rapidement l'activité antibiofilm des molécules produites dans les surnageants de culture de 3J6 et D41 sur un grand nombre d'échantillons, nous avons développé un test en microplaque 96 puits. Ce test est adapté pour des études de l'adhésion bactérienne et de la croissance des biofilms. Nous avons ainsi pu démontrer que les conditions de culture optimales pour la production de molécules inhibitrices par 3J6 et D41 étaient les suivantes : respectivement 24 et 12 h de culture en VNSS à 25°C. Nous avons démontré que ces molécules antibiofilm présentaient un large spectre d'action inhibant la formation de biofilm par 13 des 19 souches différentes testées. De plus, nous avons pu constater que les spectres d'action de 3J6 et D41 ne sont pas identiques pour 4 des souches sensibles, suggérant la production de molécules différentes. L'originalité de ces dernières réside dans leur action ciblée sur le mode de vie en biofilm. En effet, les molécules des surnageants de 3J6 et D41 n'ont aucun effet bactéricide sur les bactéries planctoniques, tandis qu'elles limitent la biomasse et l'épaisseur des biofilms et/ou diminue la viabilité des bactéries les constituant. Cependant, seules les molécules produites par D41 ont une action inhibitrice sur l'adhésion des bactéries à la surface. La purification des molécules inhibitrices, en partie de nature protéique, a été conduite à partir des surnageants bruts. Ces molécules ayant montré des propriétés différentes, deux stratégies ont été mises en place. Une chromatographie en phase inverse C18 sur le surnageant de 3J6 nous a permis d'associer l'activité inhibitrice à des molécules de poids moléculaire inférieur à 10 kDa, potentiellement des peptides. Sur le surnageant de D41, une combinaison de chromatographie échangeuse d'anions suivie d'une chromatographie en filtration sur gel ont été utilisées pour purifier plusieurs protéines d'environ 100 kDa.

Auteurs du document : Klein, Geraldine

Obtenir le document : UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

Thème (issu du Text Mining) : RESEAUX CANALISATIONS

Date : 2011-11-21

Format : text/xml

Langue : Inconnu

Droits d'utilisation : info:eu-repo/semantics/openAccess, restricted use

Télécharger les documents : <https://archimer.ifremer.fr/doc/00089/19977/17643.pdf>

<https://archimer.ifremer.fr/doc/00089/19977/>

Permalien : <https://www.documentation.eauetbiodiversite.fr/notice/nouvelles-molecules-naturelles-inhibitrices-du->



Ce portail, créé et géré par l'Office International de l'Eau (OIEau), est géré avec l'appui de l'Office français de la biodiversité (OFB)

