

TP N°2. Adhésion et formation de biofilms sur supports abiotiques

- **Adhésion sur supports solides**

L'adhésion des microorganismes aux surfaces solides est le résultat d'interactions physicochimiques entre la surface des cellules bactériennes et celle des surfaces solides.

- **Supports solides**

Historiquement de nombreux matériaux ont été utilisés dans l'industrie agroalimentaire et dans le secteur médical. On peut distinguer deux grands types classés selon la nature du matériau de fabrication de base: les matériaux ferreux essentiellement l'acier et les polymères organiques essentiellement le plastique. Au cours de ce TP, trois types de matériaux de composition et de propriétés physicochimiques différentes employés dans le secteur alimentaire et dans le secteur médical sont choisis. Il s'agit de:

- Aluminium (Industrie d'inox, Nice France),
- Polystyrène (laiterie Danone-Djurdjura, Béjaia),
- Verre (lames de microscope, Bio-Scan-Microscop-Slides).

NB : Tous les supports sont présentés sous forme de coupons (largeur : 20 mm, longueur : 10 mm, épaisseur : 0,5 mm).

- **Procédure de nettoyage et de désinfection des supports**

Dans le but d'éliminer les impuretés minérales et organiques, les supports en métal sont nettoyés et les traitements sont :

- Immersion dans de l'éthanol absolu (Sigma-Aldrich) pendant 10 min ;
- Lavage 10 min dans un détergent (Sigma-Aldrich);
- Rinçage sous agitation dans de l'eau chaude (50°C) ;
- Rinçage 5 fois sous agitation dans de l'eau distillée stérile ;

- Enrobage dans un papier aluminium ;
- Autoclavage à 120°C/20 min.

NB : les supports en plastique et le verre sont trempés 15 min dans un bain d'éthanol (Sigma-Aldrich) puis rincés 3 fois avec de l'eau distillée stérile.

- **Adhésion bactérienne**

Protocole 1

Des cultures bactériennes d'*E. coli* (10^6 UFC/ml) dans du bouillon TSB-YE (Difco, France) obtenues au bout de 18 h d'incubation à 37°C sont centrifugées à 8000 g/20 min à 4°C. Après lavage, les culots bactériens sont remis en suspension dans du TSB-YE. Les supports sont immergés dans 10 ml de cette suspension bactérienne, versée dans des boîtes de Pétri stériles, puis incubés pendant 7 jours à 25°C dans une atmosphère saturée en humidité.

Protocole 2

Des cultures bactériennes d'*E. coli* (10^6 UFC/ml) dans du bouillon TSB-YE (Difco, France) obtenues au bout de 18 h d'incubation à 37°C sont centrifugées à 8000 g/20 min à 4°C. Après lavage, les culots bactériens sont remis en suspension dans du TSB-YE. Les suspensions bactériennes sont déposées sur les supports (dans la zone prévue à cet effet). Ces derniers sont mis dans des boîtes de Pétri stériles, puis incubés pendant 7 jours à 25°C dans une atmosphère humides.

NB : Le renouvellement du milieu de culture se fait chaque 24 h.

- **Dénombrement des cellules adhérentes et viables**

Après incubation et élimination des bactéries non adhérentes sur les surfaces par lavage avec du TS stérile (Tryptone 0,1% [m/v], NaCl 0,9% [m/v]), les cellules adhérentes sont détachées par agitation vigoureuse pendant 2 min dans 20 ml de TS stérile et 20 g de billes en verre stériles (5 mm de diamètre, Sigma-Aldrich). Après agitation et préparation des dilutions, un dénombrement des bactéries viables est effectué en masse dans de la gélose TSA-YE (Difco, France) après une période d'incubation de 48 h à 37°C.

Questions :

- Déterminez le nombre de cellules adhérentes sur les différents supports en UFC/cm².
- Comparez les taux d'adhésion obtenus.
- Sur quels supports abiotiques *E. coli* adhère mieux, sachant que cette dernière possède une surface hydrophile?