

Une nouvelle bactérie marine du genre *Pseudoalteromonas sp.*, D41, formant rapidement des biofilms sur tout type de matériau (verre, acier inoxydable, Téflon) a été isolée en Baie de Brest. L'objectif de ce présent travail est de caractériser et décrire cette bactérie capable de produire des exopolymères constitués en majorité de protéines. Le rôle des protéines sécrétées, dans les mécanismes d'adhésion, est discuté.

Caractérisation bactérienne

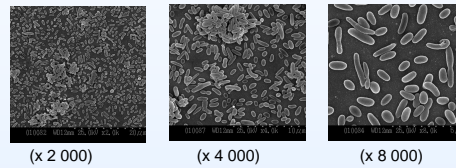


Isolats¹ de bactéries pionnières de l'adhésion après immersion de coupons d'acier inoxydable AISI 316L, de verre et de Téflon en Rade de Brest de 6 à 48h.

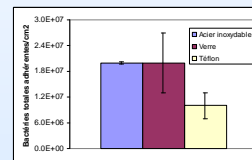
D41- *Pseudoalteromonas sp.*
Bactérie prélevée sur du Téflon, après 24h d'immersion en rade de Brest
Gram-, aérobique
oxydase positive, catalase positive
mobile : flagelle monotriche polaire
très muqueuse sur milieu glucosé :
production d'EPS.

Propriétés métaboliques :
Bactérie capable d'utiliser pour sa croissance - des sucres :
arabinose, cellobiose, D-fructose,
 α -D-glucose, maltose, D-mannose,
saccharose, D-thréalose
- des acides aminés :
alanine, leucine, sérine et thréonine.

Adhésion



Colonisation¹ par la souche D41 d'un coupon d'acier inoxydable après 3h de contact. Images obtenues au microscope électronique à balayage.



Nombre de bactéries totales adhérentes

~ 10⁷ bactéries/cm² quelque soit le matériau

***Pseudoalteromonas sp.* D41 bactérie modèle pionnière de l'adhésion**
bon candidat pour les tests d'évaluation de molécules inhibitrices d'adhésion

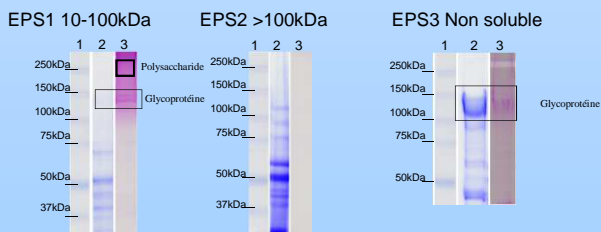
Caractérisation biochimique des EPS produits en fermenteur

D41 produit 3 fractions d'EPS: - EPS1 et EPS2, fractions solubles séparées par leur poids moléculaires au cours de l'ultrafiltration.
- EPS3 fraction non soluble.

Fraction	EPS1	EPS2	EPS3
Rendement en mg.l ⁻¹ de fermentation	48,6	18,0	68,6
Matière inorganique	20,2	40,1	25,9
Matière organique :			
Protéines	30,3	41,0	59,2
Oses	43,0	15,3	8,2
Oses acides	3,2	2,4	2,6
Total	96,7	98,8	95,9

Les teneurs en protéines, carbohydrates totaux, acides uroniques totaux et matière minérale sont déterminées par les techniques suivantes respectives : dosage BCA, méthode orcinol-acide sulfurique, méthode au meta-hydroxydiphenyl et par analyse thermogravimétrique.

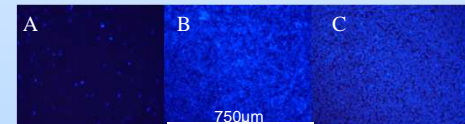
Exopolymères produits en fermenteur par D41 majoritairement constitués de protéines



Gel d'électrophorèse (8%) en conditions dénaturantes des 3 fractions d'EPS, issues de la fermentation de *Pseudoalteromonas sp.* révéle au bleu de Coomassie (colonne 2) et au réactif de Schiff (colonne 3). Les marqueurs de poids moléculaires sont en colonne 1.

Chaque profil est différent selon la fraction déposée, sauf une bande commune à EPS1 et EPS2 vers 50 kDa.
- présence de plusieurs protéines ou de sous-unités issues d'agrégats protéiques quelque soit la fraction.
- présence de polysaccharide(s) et de deux glycoprotéines pour la fraction EPS1.
- pas de mise en évidence de la présence de glycoprotéines pour la fraction EPS2, ni de migration de polysaccharides.
- la fraction EPS3 semble contenir une glycoprotéine majoritaire.

Caractérisation biochimique des EPS sur une surface de verre



Images de microscopie à épifluorescence après 24h de contact de coupons de verre avec une suspension bactérienne de D41. Les bactéries sont marquées au A) Calcofluor B) DAPI et à la C) Fluorescamine

La Fluorescamine est connue pour son affinité avec NH₂ (protéines), le Calcofluor pour les β -glucanes (carbohydrates) et le DAPI pour l'ADN (les bactéries).

Le biofilm marqué au DAPI (image B) ou à la Fluorescamine (image C) montre le même tapis bactérien laissant penser à une forte expression de protéines autour des cellules. Les β -glucanes (image A) représentent une faible partie du biofilm.

Présence majoritaire de protéines sur la surface lors de l'adhésion de D41

Ces résultats sont également corrélés à la mise en évidence d'un enrichissement en protéines² sur l'extrême surface des bactéries D41.

Bibliographie

1. C. Rubio Thèse Paris VI, 2002
2. C.M. Pradier *et al.* J. Phys. Chem. Vol 109, N°19, 2005

Les auteurs remercient la société Micromer pour leur soutien technique et l'ANRT pour l'aide financière apportée à cette étude.

Conclusions

- ❖ Une nouvelle bactérie D41 pionnière de l'adhésion, du genre *Pseudoalteromonas sp.* a été isolée en Rade de Brest. Cette bactérie adhérant rapidement et en forte densité sur tout type de matériau est un excellent modèle pour l'évaluation, en laboratoire, de l'efficacité de molécules inhibitrices d'adhésion.
- ❖ D41 produit en fermenteur des exopolymères majoritairement composés de protéines. Une forte expression de protéines est également mise en évidence sur une surface de verre après adhésion de la bactérie.
- ❖ Plus que les propriétés d'hydrophilicité/hydrophobicité de la bactérie, le rôle des protéines apparaît essentiel dans les capacités d'adhésion de la D41.