

# Analyse de l'interaction biofilm-nanoparticules par des approches microscopiques (fluorescence, MEB, STEM, MET, EDS)

Caroline Michel, Guillaume Wille, Marc Crampon, Louis Jolly, Agnès Burel, Patrick Ollivier, Christophe Mouvet, Jennifer Hellal

▶ **To cite this version:**

Caroline Michel, Guillaume Wille, Marc Crampon, Louis Jolly, Agnès Burel, et al.. Analyse de l'interaction biofilm-nanoparticules par des approches microscopiques (fluorescence, MEB, STEM, MET, EDS). 8ème Colloque de Réseau National Biofilm (RNB), Dec 2017, Clermont-Ferrand, France. hal-01621348

**HAL Id: hal-01621348**
**https://brgm.hal.science/hal-01621348**

Submitted on 23 Oct 2017

**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.

# Analyse de l'interaction biofilm-nanoparticules par des approches microscopiques (fluorescence, MEB, STEM, MET, EDS)

Caroline Michel[(1)], Guillaume Wille[(2)], Marc Crampon[(1)], Louis Jolly[(1)], Annie Richard[(3)], Agnès Burel[(4)], Patrick Ollivier[(2)], Christophe Mouvet[(1)], Jennifer Hellal[(1)]

[(1)]BRGM Direction Eau, Environnement et Ecotechnologies, Unité de Géomicrobiologie et Monitoring Environnemental, 3 Avenue Claude Guillemin, BP 36009, 45060 Orléans Cedex 2.
[(2)]BRGM Direction des Laboratoires, 3 Avenue Claude Guillemin, BP 36009, 45060 Orléans Cedex 2.
[(3)]Université d'Orléans, Centre de Microscopie Electronique, 1 Rue de Chartres, BP 6759, 45067 Orléans cedex 2.
[(4)]MRic, Biosit, Plateforme de microscopie électronique MRic TEM-Biosit Bâtiment 6, pièce 017-10 Campus Santé de Villejean, Université de Rennes 1, 2 av. du Prof. Léon Bernard - CS 34317, 35043 Rennes Cedex.

**Mots clés:** Biofilms naturels multi-espèces, échantillonnage, préparation des échantillons, marquage cellulaire, marquage par des lectines

Les propriétés physico-chimiques et de surface des nanoparticules (NP) font de la nanoremédiation une méthode prometteuse pour le traitement des milieux poreux contaminés par des molécules récalcitrantes (organochlorés…). L'efficacité de cette méthode dépend de la réactivité des NP avec les composés ciblés mais également de leur mobilité dans le milieu poreux. Les NP interagissent avec les différents composants du milieu naturel (e.g., minéraux, matières organiques dissoutes). De par leurs caractéristiques chimiques et physiques (e.g., charges de surface, hydrophobicité), les biofilms présents dans l'environnement peuvent interagir avec les NP et de fait modifier leur mobilité et réactivité (Crampon et al., 2017). Ces interactions restent peu connues, notamment en raison des difficultés d'observations *in situ*. Dans ce contexte, le travail réalisé dans le cadre du projet Nanorem (EU FP7) a pour objectif de caractériser l'interaction de NP de fer zéro valent (NANOFER 25S) avec un biofilm multi-espèces en combinant différentes approches d'observation microscopique.
Pour cela, des biofilms multi-espèces ont été cultivés sur du sable (support) ou dans des tubes en PVC inoculés avec de l'eau provenant de l'aquifère étudié additionné d'une solution nutritive permettant de favoriser la dénitrification. Après croissance, les biofilms ont été mis en contact avec les NP de fer**.** En fonction de l'approche microscopique visée, les biofilms ont ensuite été (i) échantillonnés sous forme de flocs ou de biofilms fixés au PVC ou à des grains de sable, (ii) soumis à des marquages ciblant les cellules (DAPI) et/ou les exopolysaccharides (EPS) (lectines PNA et ConA couplées au FITC ou à des NP d'or), et (iii) préparés pour l'observation (fixation, coupe, congélation…).
Les observations en microscopie à fluorescence ont montré que les NP de fer étaient présentes sous forme d'agrégats de 0.5-5 µm englués dans la structure du biofilm. Les observations MEB montrent également la présence d'agrégats de NP situés à proximité des microorganismes du biofilm, mais il n'est pas possible à ce stade de conclure quant à une interaction potentielle entre les NP et les membranes biologiques. Les analyses en STEM ont mis en évidence que des agrégats de NP (0.5 -1 µm) pouvaient pénétrer à l'intérieur de la structure du biofilm sur une distance de 7-11µm. De plus, les observations ont suggéré la présence d'une ceinture d'EPS autour des microorganismes, ce qui empêcherait l'interaction directe entre NP et la membrane cellulaire. Enfin, l'approche MET/EDS a révélé que dans les espaces intercellulaires, les agrégats de NP étaient co-localisés avec le marquage par les lectines, ce qui suggère un rôle potentiel des EPS dans le piégeage des NP.