

---

## **DLVO en microbiologie critiques et limites**

Plusieurs études ont montré des écarts entre l'adhésion bactérienne prédite par la théorie XDLVO et les données expérimentales (Dong *et al.* 2002; Li et Logan 2004). La principale limite de la théorie XDLVO est que les particules en interactions sont considérées solides, parfaitement sphériques ou planes et qu'elles n'évoluent pas au cours du temps. Les bactéries ne sont pas des particules colloïdales inertes mais plutôt un « système colloïdal vivant ». Les caractéristiques de leurs surfaces cellulaires peuvent changer en fonction de modifications des conditions environnementales et ce point n'est habituellement pas pris en compte. Par exemple l'augmentation du flux de substrat qui détermine la croissance peut modifier l'hydrophobicité de la surface cellulaire (van Loosdrecht *et al.* 1987). De nombreux facteurs physiques (rugosités de la surface, problèmes d'hétérogénéité...) et biologiques (appendices cellulaires, hétérogénéité de la population...) peuvent conduire à des écarts entre la théorie et la réalité. Il est également important de garder à l'esprit que les interactions relatives à la théorie XDLVO se font à l'échelle du nanomètre alors qu'une cellule bactérienne mesure typiquement de l'ordre du micromètre.

### 1.3.1. Facteurs physiques affectant la théorie DLVO

Récemment plusieurs auteurs ont constaté qu'ignorer les rugosités de surface nanométrique peut conduire à des calculs XDLVO erronés (Bhattacharjee *et al.* 1998; Hoek et Agarwal 2006; Hoek *et al.* 2003). Les rugosités de surface à l'échelle du nanomètre existent quasi systématiquement mais sont ignorées pour des raisons pratiques. Or ce type de rugosité augmente la distance de séparation entre les surfaces en interactions et par conséquent réduit les énergies libres d'interactions (Hoek et Agarwal 2006). Bhattacharjee *et al.* ont montré que l'écart entre le profil d'énergie d'interaction DLVO pour des surfaces rugueuses, et le profil d'énergie d'interaction DLVO pour des

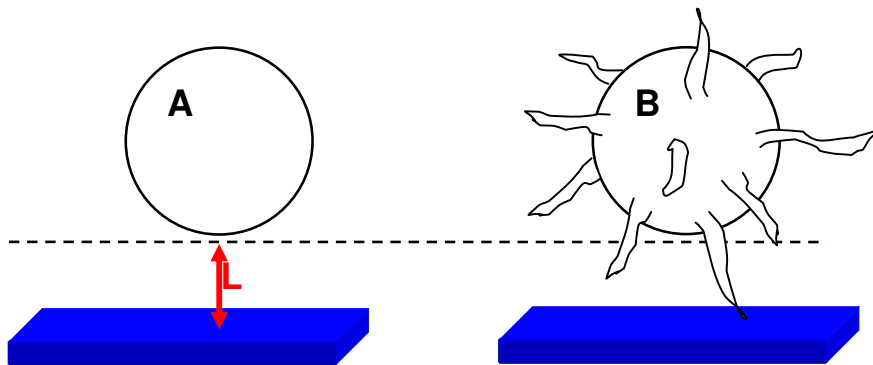
surfaces parfaitement lisse (théorique) est significatif (Bhattacharjee *et al.* 2000; Bhattacharjee *et al.* 1998). L'effet est d'autant plus important lorsque la distance de séparation entre les deux surfaces en interaction diminue (Bhattacharjee *et al.* 1998).

### 1.3.2. Les facteurs chimiques affectant la théorie DLVO

Dans un système idéal les cellules bactériennes tout comme une surface inorganique comme le quartz sont chargés négativement si bien qu'il y a répulsion entre les deux. Cependant des oxydes métalliques chargés positivement peuvent se trouver sur des surfaces inorganiques ce qui augmente considérablement la rétention des bactéries dans un milieu poreux (Johnson *et al.* 1996). La présence d'oxydes métalliques n'est pas révélée par des mesures d'électrophorèse et la charge globale du milieu poreux reste négative. Les aquifères sont également plus complexes que des systèmes idéalisés. Les sols peuvent contenir toutes sortes de métaux ainsi que de la matière organique ce qui rend la prédiction des interactions bactérie – phase solide encore plus difficile. Par exemple Johnson et Logan ont montré que la présence d'oxyde de fer sur le quartz augmente de 160% l'adhésion des bactéries dans une matrice de sable (par rapport à du quartz sans oxyde de fer). Lorsque ils ajoutent de la matière organique dans les colonnes ils constatent que l'effet des oxydes de fer est annulé (Johnson et Logan 1996). La matière organique élimine les charges positives des métaux dans les aquifères et diminue ainsi l'attachement des bactéries (Scholl et Harvey 1992).

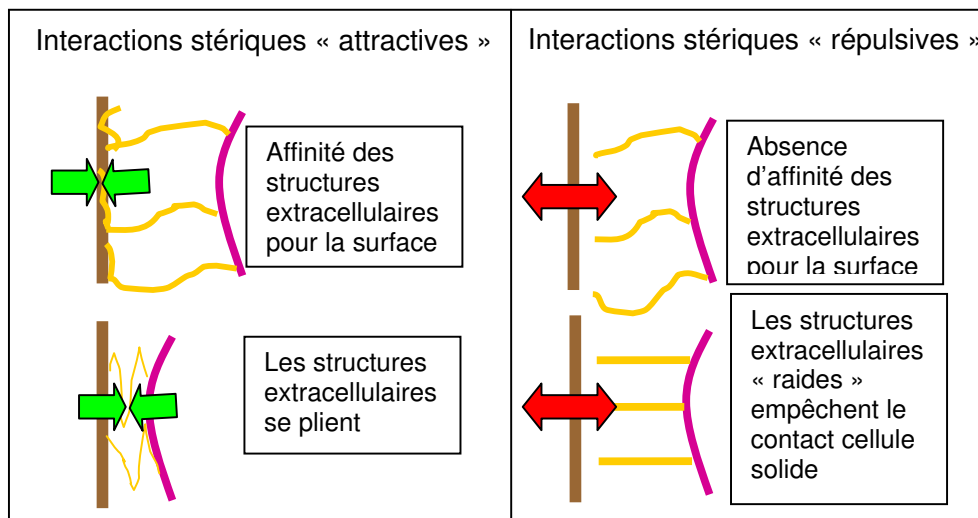
### 1.3.3. Facteurs biologiques affectant la théorie DLVO

Des études précédentes ont montré que le type de cellule bactérienne (Gram plus ou moins), les lipopolysaccharides (LPS), les fimbriæ ou les exopolysaccharides (EPS) peuvent interférer avec les forces de la théorie XDLVO.



**Figure 6 :** Illustration schématique de l'accessibilité à une surface plane d'un colloïde sphérique lisse (A) et d'un colloïde sphérique de diamètre identique mais présentant des excroissances de faible diamètre à sa surface. (Inspiré de Van Oss, 2003).

La ligne en pointillé indique la limite d'approche (L) pour les colloïdes A et B. Le colloïde hydrophile et lisse (A) ne peut pas établir un contact avec la surface hydrophile plane à cause des répulsions hydrophiles qui maintient une distance de séparation L d'environ 4 à 5nm. Il en est de même pour la particule B sauf que les appendices peuvent s'affranchir de la barrière de répulsion (échelle macroscopique) grâce à leurs faibles diamètres et ainsi établir des contacts spécifiques.



**Figure 7 :** Les différents types d'interactions stériques et leurs effets sur l'adhésion d'une cellule bactérienne à une surface

Par exemple, selon Van Oss, le faible diamètre des appendices extracellulaires permet facilement de pénétrer le champ de répulsion et d'établir un contact avec la surface et ainsi ancrer la cellule comme illustré dans la figure 6 (van Oss 2003).

Les structures extracellulaires sont responsables d'interactions stériques qui peuvent aussi bien contribuer à l'adhésion qu'à la prévenir (Rijnaarts *et al.* 1999). Bos *et al.* affirment que les interactions courtes AB sont non opérationnelles car des hétérogénéités structurales et chimiques de surface maintiennent une distance entre les deux surfaces en interactions supérieure au champ d'opération des interactions AB (Bos et Busscher 1999). Il a été postulé que les polymères de surface empêchent les cellules d'atteindre le « minimum primaire » car cela nécessite leur compression et leur repliement entre la bactérie et la surface (Rijnaarts *et al.* 1996). D'autres au contraire affirment que certains polymères favorisent l'adhésion bactérienne grâce à l'adsorption de ces polymères sur la surface solide (Jucker *et al.* 1998). Suivant la rigidité et l'affinité de ces structures extracellulaires pour la surface, l'interaction entre la bactérie et la surface peut être différente (Jucker *et al.* 1997). Dans le cas où les polymères de surface contribuent à l'adhésion de la cellule il est probable que ces polymères ont une forte affinité pour la surface (Rijnaarts *et al.* 1996). Si le polymère a la capacité de se replier la distance de séparation cellule-surface diminue et augmente la capacité d'adhésion cellulaire (Rijnaarts *et al.* 1996). La figure 7 illustre les différents types d'interactions stériques et leurs effets sur l'adhésion bactérienne à une surface.

Tong *et al.* (Tong *et al.* 2005) ont constaté que le transport de leur souche DA001 (*Comamonas* DA001) dans du sable était remarquable et que le taux de rétention était très faible malgré l'absence de barrière électrostatique (le potentiel  $\zeta$  de cette souche varie entre -2mV et -0,5mV en fonction de la force ionique). Des mesures de forces d'interactions entre la souche DA001 et du nitrure de silicium (considéré par les auteurs comme un substitut raisonnable pour la sable) à l'aide d'un microscope à force atomique ont révélé (i) la présence de polymères de surface de 59,8nm d'épaisseur (ii) une faible affinité pour le nitrure de silicium. Les répulsions stériques dues aux polymères de surface sont considérées comme responsables pour la faible affinité de la bactérie pour le

nitru de siliciu. Les auteurs en concluent que les interactions stériques dues à la couche de polymères qui recouvrent la bactérie empêchent l'adhésion sur les grains de sables et favorise donc le transport de cette souche. L'ensemble de ces publications (non exhaustifs) indique clairement l'interférence des polymères de surface avec les interactions XDLVO. La difficulté est liée à la grande diversité des structures extracellulaires impliquées dans les processus d'adhésion bactérienne. Selon Bos *et al.* pour la validité de la théorie DLVO il est nécessaire de prendre en compte la très large panoplie de structures cellulaires de surface (Bos *et al.* 1999). L'influence de la production de polymères à la surface des cellules sur l'adhésion des bactéries en milieu poreux sera développée dans la partie facteurs biologiques (§1.4).

#### 1.3.4. La théorie DLVO remise en cause

En 1998 D.Y. Kwok remet en cause la relation entre interactions LW et AB et les composantes de tensions de surface (Kwok 1999). Selon l'auteur l'approche proposée par Van Oss ne permet pas de prédire correctement les tensions de surface et les tensions interfaciales pour plusieurs systèmes liquide-solide et liquide-liquide. Kwok évoque trois idées communément admises qu'il considère comme fausses : (i) Les composantes de tensions de surface sont des propriétés de matériaux spécifiques et qui se manifestent par des forces intermoléculaires spécifiques. (ii) La connaissance des composantes de tension de surface permet une meilleure compréhension des interactions moléculaires. (iii) Les mesures d'angles de contact donne des informations sur les forces intermoléculaires. Pour un solide donné, l'angle de contact dépend uniquement de la tension de surface du liquide et pas directement des forces intermoléculaires. En remettant en cause la relation entre angle de contact et composantes  $\gamma^+$  et  $\gamma^-$  utilisé dans la théorie XDLVO (voir équation 11) l'article de Kwok met en doute la fiabilité de l'approche de Van Oss (Kwok 1999). Cependant de nombreux articles ont continué à utiliser la théorie XDLVO pour étudier l'adhésion bactérienne longtemps après l'article de Kwok publié en 1998.

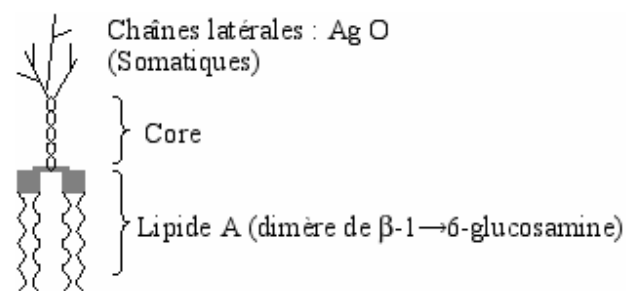
## 1.4. Les facteurs biologiques

La composition chimique d'une surface cellulaire est complexe et évolue au cours du temps. Les membranes peuvent être modifiées en fonction de l'environnement, du stress ou encore de l'apport nutritionnel (Sanin *et al.* 2003). Or les propriétés d'adhésion sont en partie déterminées par les caractéristiques physicochimiques (hydrophobicité, potentiel zêta...) de la membrane cellulaire (van Loosdrecht *et al.* 1987; van Loosdrecht 1990). De plus de nombreuses espèces bactériennes sont capables de produire des composés et/ou des appendices extracellulaires qui peuvent à leur tour modifier les propriétés d'adhésion des cellules (Iwabuchi *et al.* 2003; Zita et Hermansson 1997). A cause de l'implication de ces caractéristiques biologiques des cellules dans la formation de biofilms la littérature est très riche et propose de nombreuses études. En revanche l'influence des facteurs biologiques (polymères de surface, motilité cellulaire et conditions physiologique) sur le transport microbien en milieu poreux a reçu moins d'attention.

### 1.4.1. Polymères de la surface cellulaire

#### *a. Les polymères extracellulaires (ou EPS)*

Les EPS sont composés d'une mixture de macromolécules très diverses telles que des polysaccharides, des protéines ou des composés lipidiques (Nielsen *et al.* 1997). Les EPS sont impliqués dans la formation et le développement de biofilms (Costerton *et al.* 1995). Cependant le rôle exact des EPS dans les phénomènes d'adhésion reste encore mal connu. En effet la composition chimique des EPS est très hétérogène et leur production varie en fonction des souches modifiant ainsi les propriétés d'adhésion (Tsuneda *et al.* 2003). Certaines études mentionnent l'effet positif des EPS sur l'adhésion bactérienne (Costerton 1985; Dufrene *et al.* 1996) tandis que d'autres mentionnent le contraire (Gomez-Suarez *et al.* 2002). Quelques études ont été menées pour comprendre



**Figure 8 :** Illustration d'un lipopolysaccharide

l'influence des EPS sur le transport bactérien en milieu poreux (Liu *et al.* 2007; Tong *et al.* 2005; Tsuneda *et al.* 2003). Les travaux de Liu *et al.* illustrent parfaitement la difficulté de comprendre l'impact des EPS sur les interactions des bactéries avec un milieu poreux (Liu *et al.* 2007). Le transport de trois souches de *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1, PAO1 *psl pel* et PDO300) aux capacités de production d'EPS différentes a été étudié sur des colonnes de billes de verre. La souche PAO1 fabrique des EPS riches en carbohydrates tandis que la souche PAO1 *psl pel* produit le même EPS mais en plus faibles quantités. PDO300 fabrique des EPS riches en acides uroniques. Liu *et al.* ont constaté que les souches PAO1 et PDO300 sont mieux retenues en sortie de colonne qu'à l'entrée. Par contre l'adhésion de la souche PAO1 *psl pel* est homogène tout au long de la colonne. Leurs résultats montrent aussi qu'une partie des EPS faiblement attachés à la surface des cellules PAO1 et PDO300 reste collée à la surface des billes de verre en entrée des colonnes (par des phénomènes d'attachement et de détachement). Les auteurs en concluent que les billes de verre ainsi conditionnées par un film d'EPS deviennent moins propice à l'adhésion des cellules ce qui explique pourquoi les souches PAO1 et PDO300 sont moins retenue en entrée de la colonne que plus en aval là où la déposition d'EPS n'a pas eu lieu (Liu *et al.* 2007). Cependant les différences de transport observées pour les trois souches étudiées ne sont pas très importantes.

#### *b. les Lipopolysaccharides (LPS)*

Les lipopolysaccharides sont des macromolécules constituées d'une chaîne polysaccharidique attachée à la membrane cellulaire par une partie lipidique (lipide A). La figure 8 illustre les 3 parties constituant une molécule LPS :

Les chaînes latérales (ou antigène O) sont de nature polysaccharidique et sont spécifiques à chaque souche. Le « core » est également de nature saccharidique. Il y a plus de 3,5 millions de molécules LPS sur la face externe de la membrane des cellules GRAM négatif. Les LPS contribuent à la charge négative de la cellule. L'impact des LPS sur le transport microbien en milieu poreux a été abondamment abordé (Abu-Lail et Camesano 2003; DeFlaun *et al.* 1999; Liu *et al.* 2007; Walker et Redman 2004; Walker *et al.* 2004). DeFlaun *et al.* ont comparé l'adhésion et le transport d'une souche sauvage de



*Burkholderia cepacia* G4 (pseudomonas du sol) avec un mutant ENV435 sur 3 sols différents (DeFlaun *et al.* 1999). Le mutant a été sélectionné sur colonne de sable pour ses caractéristiques de déficience d'adhésion. Les 3 sols utilisés sont le sable et 2 sédiments aquifères dont les compositions en sable, argile et limon sont différents. Les résultats montrent que le transport de la souche sauvage a été sévèrement retardé par rapport au mutant et au traceur à travers les 2 types de sédiments. Une analyse chromatographique d'interaction hydrophobe a révélé que la souche sauvage était significativement plus hydrophobe que le mutant. Puis une électrophorèse sur gel d'acrylamide a révélé des différences importantes au niveau des antigènes O des LPS des deux souches étudiées. Les auteurs soutiennent l'hypothèse que la différence au niveau de ce polymère de surface pourrait expliquer la diminution de l'adhésion du mutant ENV435 par rapport à la souche sauvage. Une simple mutation au niveau de la synthèse des polymères de surface pourrait donc modifier profondément la thermodynamique de la surface cellulaire et par conséquent la vitesse de déplacement de la cellule dans un sol. Cette étude souligne l'importance du rôle joué par certains biopolymères de surface mais aussi leurs complexités. Dans une étude plus récente Liu *et al.* ont montré que le transport à travers du sable de 3 bactéries potentiellement pathogènes était ralenti lorsque les grains de sable étaient enduits d'une couche de LPS (Liu *et al.* 2007).

### *c. Les Pili*

Le pilus (ou fimbriae, pili au pluriel) est un appendice se situant à la surface de la paroi de nombreuses bactéries à Gram négatif (et exceptionnellement des bactéries à Gram positif) et qui peut mesurer jusqu'à 2 $\mu$ m. On en distingue deux types : les pili communs et les pili sexuels. Les pili communs peuvent intervenir dans les phénomènes d'adhésion spécifique notamment avec des récepteurs situés à la surface des cellules eucaryote (Bullitt et Makowski 1998). Le caractère hydrophobe des pili pourrait être à l'origine des propriétés adhésives qu'on leur attribue généralement (Ward 1980). Cependant la littérature ne mentionne aucune étude de l'impact des pili sur le transport microbien en milieu poreux.

#### 1.4.2. Motilité cellulaire et transport bactérien en milieux poreux

Certaines cellules bactériennes possèdent leurs propres moyens de propulsion grâce des appendices extracellulaires appelés flagelles. Ces structures extracellulaires agissent comme des hélices ou des nageoires. Plusieurs études ont été menées pour connaître l'influence de la motilité bactérienne sur leur transport en milieu poreux (Camesano et Logan 1998; Camper *et al.* 1993). Certaines comparaisons entre bactéries motiles et non motiles en chambre à écoulement (flow cell) (McClaine et Ford 2002) ou sur colonnes (Becker *et al.* 2004) montre que le taux d'attachement est plus élevé pour les cellules mobiles alors que d'autres études obtiennent des résultats contraires (Camesano et Logan 1998). Gannon *et al.* n'ont pas constaté d'influence de la motilité des cellules sur le transport bactérien en milieu poreux (Gannon 1991). Le mécanisme par lequel la motilité bactérienne influe sur le déplacement des cellules dans un milieu poreux demeure inconnu mais de nombreuses hypothèses ont été faites. La mobilité bactérienne pourrait par exemple augmenter le taux de collision avec la surface du milieu poreux et donc augmenter les chances d'adhésion de la bactérie (van Loosdrecht 1989). L'énergie cinétique de la motilité pourrait permettre à la bactérie de vaincre la barrière électrostatique répulsive et faciliterait ainsi l'adhésion (van Loosdrecht 1989). Mc Caulou *et al.* affirment le contraire ; la motilité bactérienne augmenterait le taux de désorption grâce à la force de locomotion qui permet à la cellule de se détacher de la surface (McCaulou 1995). Ces auteurs en déduisent que le transfert de bactéries motiles vers des aquifères profond serait significativement accru grâce à leur motilité propre. Enfin, McClaine et Ford suggèrent que le comportement de détachement de bactéries motile est très influencé par la vitesse d'écoulement du fluide (McClaine et Ford 2002). Les flagelles pourrait aider à augmenter l'attachement ou faciliter le détachement des bactéries de la surface selon les forces hydrodynamiques du système (McClaine et Ford 2002). L'ensemble des ces résultats parfois contradictoires pourrait être lié à des conditions expérimentales différentes. En dépit de ces observations parfois opposées il ressort que la motilité bactérienne affecte d'une manière ou d'une autre le transport de bactéries en milieux poreux en modifiant les cinétiques d'attachement et de détachement.

Dans certaines conditions le chimiotactisme peut influencer sur le transport microbien en milieu poreux en modifiant la direction de déplacement des cellules motiles (Sen *et al.* 2005). En effet certaines bactéries motiles peuvent se déplacer vers un environnement plus favorable en réponse à un stimulus. Par exemple ce type de bactéries est capable de se diriger vers une zone où la concentration en nutriments bénéfiques est élevée ou de s'éloigner de substances nuisibles. Olson *et al.* ont montré que le chimiotactisme peut jouer un rôle important dans le déplacement microbien dans les aquifères (Olson *et al.* 2004). Plusieurs auteurs ont intégré le facteur chimiotactisme dans leurs modèles pour prédire le transport microbien dans un profil sol (Barton et Ford 1997; Nelson et Ginn 2001; Sen *et al.* 2005). Barton et Ford n'ont observé aucune différence significative du transport microbien (en colonne de sables) en présence ou absence d'un gradient chimique (Barton et Ford 1995). Cependant les auteurs attribuent cette absence d'effet du chimiotactisme au gradient chimique trop faible utilisé pendant leurs expériences (Barton et Ford 1997).

#### 1.4.3. Etat et condition physiologique

L'état physiologique d'une bactérie peut influencer les caractéristiques physicochimiques de la surface des cellules et par conséquent les propriétés d'adhésion. Par exemple l'hydrophobicité de la cellule peut être modifiée par la phase de croissance et le taux de multiplication cellulaire (McEldowney 1986). Van Loosdrecht *et al.* ont observé que les bactéries deviennent plus hydrophobes pendant la phase de croissance exponentielle (van Loosdrecht *et al.* 1987). La nutrition des cellules peut également modifier les propriétés d'adhésion des cellules (Sanin *et al.* 2003). Chen et Strevet ont mis en évidence l'impact des sources nutritives (ratio de carbone sur azote) sur les propriétés de surface d'une souche d'*E. coli* (Chen et Strevett 2003). Les mêmes auteurs observent par ailleurs que la phase de croissance, la phase stationnaire et la phase de dégénérescence n'ont pas d'effet significatif sur les propriétés de surface (en particulier  $\gamma^{LW}$ ) des souches de *E. coli*, *Pseudomonas fluorescense* et *Bacillus subtilis* (Chen et Strevett 2001). Grasso *et al.* ont fait le même constat (Grasso 1996). Smet *et al.* ont étudié l'impact de l'état physiologique de *P. fluorescense* sur l'adhésion et le transport à travers des colonnes

remplies de billes de verre (Smets *et al.* 1999). Les trois états physiologiques testés ont été définis par phase de croissance, la phase stationnaire et la phase de dégénérescence. Les cellules en phase exponentielle adhèrent mieux sur le verre que les cellules en phase stationnaire ou en dégénérescence. Les auteurs constatent également que les cellules en phase exponentielle sont le plus hydrophiles, en contradiction avec les travaux cités ci-dessus. Ceci est d'autant plus surprenant que cette hydrophilicité augmente les répulsions AB entre le verre et les cellules bactériennes et devrait donc théoriquement diminuer l'adhésion. L'explication pourrait venir du potentiel zêta plus faible des cellules en phase de croissance. En effet les auteurs suggèrent que les cellules en phase exponentielle, du fait de leur faible potentiel zêta, sont vraisemblablement retenues dans un minimum secondaire qui est pour cette phase de croissance plus important que pour les autres états physiologiques.

#### 1.4.4. Densité cellulaire

Il a été postulé que plus la concentration en cellules est élevée, plus le taux d'adsorption bactérienne sera élevé. Bengtsson et Lindqvist ont constaté que lorsque la concentration cellulaire dans la phase liquide augmente la quantité de cellules attachées aux particules de sol augmente également jusqu'à ce que la surface disponible à l'adhésion arrive à saturation (Bengtsson et Lindqvist 1995). Il est à noter que Bradford et Battahar, utilisant des colloïdes artificiels, ont observé une diminution de la rétention quand la concentration d'injection augmente (Bradford et Bettahar 2006). Les auteurs postulent des interactions répulsives entre colloïdes en solutions et adsorbés pour expliquer leurs observations.

## 2. La filtration

Le mécanisme de filtration correspond à un blocage physique des cellules par des pores dont la taille est inférieure à celles des cellules bactériennes (Corapcioglu 1984). Les facteurs qui influent sur la filtration dans un milieu poreux sont : la forme et la taille

des cellules, le niveau de saturation en eau du milieu poreux et l'obstruction éventuelle des pores (Stevik *et al.* 2004).

## 2.1. Le milieu poreux :

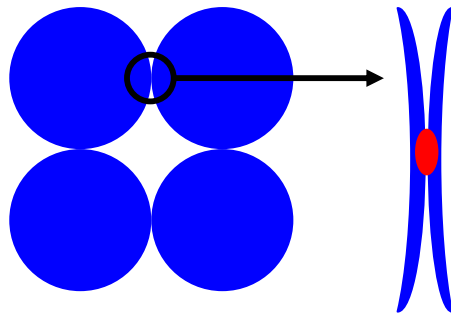
La taille des grains constituant le milieu poreux est un facteur important dans le transport microbien comme l'attestent plusieurs travaux (Ausland *et al.* 2002; Bradford *et al.* 2006; Fontes *et al.* 1991; Stevik *et al.* 1999). Plus la taille des grains est petite plus la taille des pores est réduite limitant ainsi le passage des bactéries. L'argile, le limon et le sable fin induisent des tailles de pores de l'ordre de grandeur de la plupart des cellules bactériennes. La filtration peut ainsi être un mécanisme limitant le mouvement bactérien à travers ce type de matériaux (Matthess 1985). La présence de macro pores et de fractures dans une matrice poreuse au contraire facilite le transport microbien (Artz *et al.* 2005; Natsch *et al.* 1996). La présence de galeries formées par des vers de terre par exemple facilite le transport d'*E. coli* O157:H7 tandis que le compactage du sol limite son transport (Artz *et al.* 2005). Ibaraki et Sudicky ont réalisé des simulations numériques de transport colloïdal par un réseau de fractures dans un milieu poreux (grès et argile) (Ibaraki et Sudicky 1995). Leurs travaux montrent que le manque de données sur les réseaux de fractures et les coefficients de filtration augmentent l'incertitude de prédiction du transport colloïdal pour des applications à grande échelle. En effet lorsque l'eau coule dans les pores de grande taille les vitesses d'écoulement sont plus rapides augmentant la vitesse et la distance de transport.

Bradford *et al.* ont publié récemment une série d'articles insistant sur l'importance de l'effet filtration sur le transport des colloïdes ou de bactéries en milieu poreux (Bradford et Bettahar 2005; Bradford *et al.* 2005; Bradford *et al.* 2006; Bradford *et al.* 2006; Bradford *et al.* 2002) En testant le transport de la souche *E. coli* O157:H7 dans des colonnes de sables de porosité variables Bradford *et al.* ont clairement mis évidence l'influence de la taille des grains de sable. Ainsi les sables fins (240 et 150 $\mu\text{m}$ ) filtrent d'avantage de cellules que les sables plus gros (360 et 710 $\mu\text{m}$ ) (Bradford *et al.* 2006). Dans ce type d'étude les sédiments utilisés ont généralement des tailles de grain très uniforme. Cependant, la plupart des sédiments normaux ont une distribution de la taille

des grains fortement non uniforme : dans les sédiments naturels 10% des pores sont assez petits ( $>1\mu\text{m}$ ) pour gêner transport bactérien (Jordan *et al.* 2004). Brown *et al.* ont également constaté l'influence de la forme des grains de sables sur le transport microbien, les grains ovales étant moins propice au transport que les grains ronds (Brown *et al.* 2002).

Plusieurs travaux ont tenté d'établir un ratio entre la taille des bactéries et la taille des pores (ou encore tailles des grains) à partir duquel la filtration opère (Matthess 1985). Mais ce ratio varie beaucoup en fonction des auteurs. Brouwer estime que la filtration débute lorsque le diamètre des grains constituant le milieu poreux est inférieur ou égal à 5 fois le diamètre des colloïdes en suspension (Brouwer 1984). Selon Bradford *et al.* la filtration se produit quand le ration entre le diamètre des particules en suspension ( $d_e$ ) et le diamètre moyen des grains ( $d_{50}$ ) est supérieur à 0.0017 (Bradford *et al.* 2002). Bradford *et al.* utilisent le même calcul ( $d_e/d_{50}$ ) pour déterminer que la filtration d'*E. coli* O157:H7 par des sables fins se produit lorsque  $d_e/d_{50}$  est supérieur à 0.005 (Bradford *et al.* 2006).

Un autre phénomène qui peut être assimilé à la filtration par un milieu poreux est le blocage des colloïdes au niveau des zones de contact entre grains constituant la matrice poreuse (Bradford *et al.* 2005; Bradford *et al.* 2003; Bradford *et al.* 2002) (voir figure 9 page 80). Plus récemment le blocage de colloïdes par des zones de contact entre grains d'un milieu poreux a pu être visualisé et est considéré comme un mécanisme important de déposition (Li *et al.* 2006) Il a aussi été montré de façon théorique que le phénomène de blocage dans un matrice porale peut se produire même en présence d'une barrière d'énergie (Johnson *et al.* 2007).



**Figure 9 :** illustration du blocage d'une cellule bactérienne au niveau de la zone de contact entre deux grains d'un milieu poreux

## 2.2. La morphologie des bactéries

Les études sur l'influence de la forme et de la taille des bactéries sur la filtration sont peu nombreuses. Gannon *et al.* ont trouvé une bonne corrélation entre la filtration et la taille des cellules (Gannon 1991). Weiss *et al.* ont étudié l'influence de la morphologie cellulaire (en calculant le ratio largeur sur longueur cellulaire) de 14 souches sur le transport microbien en milieu poreux (Weiss *et al.* 1995). Le résultat de leurs études suggère que les bacilles allongés sont les plus filtrés par le sable. De même ils montrent que les plus petites cellules sont les mieux transportés. Plus récemment Salerno *et al.* ont utilisé des microsphères de latex artificiellement déformées pour étudier l'effet de la morphologie des colloïdes sur la filtration en milieux poreux (Salerno *et al.* 2006). Des microsphères en latex de 1 $\mu$ m de diamètre (témoin) ont été allongées par la chaleur de façon à obtenir deux colloïdes tels que leur ratio longueur sur largeur soit de 2:1 et 3:1. Les résultats montrent que la filtration dans les colonnes remplies de billes de verre (diamètre 40 $\mu$ m) est d'autant plus élevée que le ratio longueur sur largeur est grand. Le contraste est surtout remarquable avec les colloïdes témoins qui sont parfaitement sphériques. A noter que la chimie de surface et le potentiel zêta ne jouent pas un rôle discriminant dans cette expérience puisque ces caractéristiques sont identiques pour tous les colloïdes utilisés. Les auteurs concluent que la forme allongée de certaines particules, telles que les bactéries de type bacille, est un facteur fortement impliquée dans les phénomènes de rétention en milieu filtrant (Salerno *et al.* 2006).

## 2.3. L'obstruction des pores

La diminution du volume poral par l'obstruction des pores peut être une cause de filtration dans un environnement poreux. Une des causes majeures de l'obstruction peut être la formation de biofilms (Thullner *et al.* 2002) ou des cellules agrégées (Bradford *et al.* 2006) qui remplissent les pores. D'après Bradford *et al.* des cellules d'*E. coli* non agglomérées peuvent se déposer au niveau d'étranglement de pores et s'agglomérer pour former un bouchon. Les cellules agglomérées peuvent ensuite être relâchées dans la



phase aqueuse sous l'effet de forces hydrodynamiques (Bradford *et al.* 2006). Iliuta et Larachi ont simulé l'agrégation de cellules de *Pseudomonas putida* dans un bioréacteur (lit poreux alimenté goutte à goutte avec des eaux usées) (Iliuta et Larachi 2006). Dans leur modèle ils supposent que le détachement des cellules se produit par mouvement Brownien lorsque le rayon de l'agrégat est inférieur à  $2\mu\text{m}$  et grâce aux forces de cisaillements lorsque le rayon de l'agrégat est supérieur à  $2\mu\text{m}$ . Leur travaux montrent l'impact de l'obstruction des pores par des agrégats bactériens (Iliuta et Larachi 2006). Rijnaarts *et al.* ont constaté que l'obstruction des pores par des cellules bactériennes dépend de la taille cellulaire et de la possibilité d'agrégation des cellules (Rijnaarts *et al.* 1996).

#### **2.4. Saturation en eau et charge hydraulique en milieu poreux**

Lorsque le flux hydrique appliqué à la surface d'un milieu poreux insaturé est faible (c.a.d. inférieur à la conductivité hydraulique à saturation) l'eau circule préférentiellement dans les petits pores favorisant ainsi les phénomènes de filtration. Quand le flux appliqué est suffisamment élevé pour augmenter le niveau de saturation en eau du milieu poreux, l'eau circule préférentiellement à travers les pores les plus grands (loi de Poiseuille). Dans ces conditions les phénomènes de filtrations sont réduits (Smith 1985). Une augmentation du flux hydrique contribue donc au transport microbien en milieu poreux. De plus en conditions non saturées, la présence d'air dans le milieu poreux crée des interfaces air-eau. Depuis les années 70 plusieurs études montrent que les bactéries ou les colloïdes ont tendance à s'accumuler à l'interface eau-air (Blanchard 1972; Corapcioglu et Choi 1996; Powelson et Mills 1996; Schafer *et al.* 1998). Wan *et al.* ont même visualisé l'accumulation de cellules bactérienne au niveau d'interfaces eau-air après le transport de bactéries à travers des colonnes de sables insaturées (Wan *et al.* 1994). Ces études suggèrent fortement que la présence d'air dans un sol joue un rôle de rétention lors du transport bactérien.

### 3. Forces Hydrodynamiques

De nombreuses études ont montré que le transport des bactéries à travers des milieux poreux est amélioré lorsque les vitesses d'écoulement augmentent (Camper *et al.* 1993; Sarkar *et al.* 1994; Tan *et al.* 1994). Ainsi Huysman et Verstraete (Huysman et Verstraete 1993) ont constaté que le transport bactérien à travers des filtres était beaucoup plus élevé avec un flux d'eau de  $4,7\text{cm.h}^{-1}$  qu'avec un flux d'eau de  $0,8\text{cm.h}^{-1}$ . Comme expliqué précédemment (voir § 2.4) l'effet de la filtration est amoindri lorsque le flux d'eau à la surface du milieu filtrant augmente. A l'intérieur des pores les forces hydrodynamiques peuvent être responsables du détachement de bactéries (phénomènes de cisaillement) mais également de la rétention des cellules dans des zones mortes.

#### 3.1. Les forces de cisaillement et vitesse de l'écoulement

L'augmentation des forces hydrodynamiques est aussi synonyme de forces de cisaillements susceptibles d'arracher des bactéries qui ont adhéré sur la matrice poreuse (Bradford *et al.* 2006). Bergendahl et Grasso ont étudié le détachement de colloïdes de polystyrènes ( $1\mu\text{m}$  de diamètre) retenus dans un milieu poreux constitué de billes de verre sous l'effet de différentes force hydrodynamiques (Bergendahl et Grasso 2000). Cinq flux d'eau ( $5, 25, 50, 75$  et  $100\text{ml.min}^{-1}$  correspondant à des vitesses de pore allant de  $0.36$  à  $7.28$  mm/s) ont été séquentiellement injectés dans les colonnes et ce pour 3 forces ioniques différentes ( $1\text{mM}, 0.01\text{M}$  et  $0.1\text{M}$  de NaCl). La quantité de colloïdes détachés augmente systématiquement lorsque le flux appliqué augmente mais devient surtout importante lorsque le flux est supérieur à  $50\text{ml.min}^{-1}$ . Il est intéressant de noter que la force ionique n'a pas eu d'influence sur le détachement des colloïdes pendant leurs expériences, vraisemblablement parce que les colloïdes de polystyrène sont hydrophobes et retenus dans le minimum primaire (Bergendahl et Grasso 2000). Dans des travaux similaire Li *et al.* ont étudié le rôle des forces dues aux traînées hydrodynamiques sur la déposition et le relâchement de colloïdes dans un milieu poreux (Li *et al.* 2005). Des expériences d'attachement et de détachement de colloïdes ( $1,1\mu\text{m}$ ) ont été réalisées en colonnes de sable et de billes de verre en présence d'une barrière électrostatique ou non.

Leurs résultats ont montré qu'en absence de répulsions électrostatiques entre colloïdes et matrice poreuse, la déposition des colloïdes dans le milieu poreux est augmentée par une élévation du flux, ce qui est en accord avec la théorie de la filtration. Il y a toutefois de nombreuses références qui présentent des résultats inverses, à savoir qu'une augmentation du flux hydrique s'accompagne d'un meilleur transport des colloïdes à travers un système filtrant (Choi *et al.* 2007). Tong et Johnson ont obtenu des résultats similaires à ceux de Li et ses collègues (Tong et Johnson 2006). Cependant lorsque Li *et al.* répètent la même expérience en présence de répulsions électrostatiques ils constatent le contraire : la déposition des colloïdes sur le milieu poreux diminue lorsque le flux augmente, ce qui alors est en contradiction avec la théorie de la filtration (Li *et al.* 2005). Les auteurs en concluent dans un premier temps que l'effet des forces hydrodynamiques causé par le flux sur la déposition des colloïdes est faible. En revanche ils démontrent habilement que les traînées hydrodynamiques jouent un rôle significatif dans les phénomènes de détachement de colloïdes en milieu poreux (Li *et al.* 2005). Ainsi en présence de répulsions électrostatiques le détachement des colloïdes augmente lorsque le flux augmente ce qui n'est pas le cas sans répulsions électrostatiques. Les auteurs attribuent ce résultat à la déposition des colloïdes via le minimum secondaire lorsqu'il y a des répulsions électrostatiques. En effet les traînées hydrodynamiques étant plus fortes que le minimum secondaire, les forces de cisaillement sont vraisemblablement responsables des phénomènes de détachement des colloïdes observés par les auteurs. Sans répulsions électrostatiques lors de la phase d'attachement, les colloïdes sont retenus dans le minimum primaire. Or le minimum primaire constitue une force de rétention dans le milieu poreux bien supérieure aux forces d'entraînement expliquant l'effet nul des traînées hydrodynamiques sur le détachement des colloïdes dans ces conditions. A noter que les détachements observés de Li *et al.* (Li *et al.* 2005) pour le cas sans répulsion électrostatique sont en contradiction avec les résultats obtenues par Bergendahl et Grasso (Bergendahl et Grasso 2000) cités plus haut. Toutefois, les conditions expérimentales n'étaient pas les mêmes, en particulier les vitesses de pore dans les cas de Li *et al.* étaient environ 1000 fois plus faible que dans l'étude de Bergendahl et Grasso.

### **3.2. Les zones mortes**

Un facteur qui a longtemps été ignoré dans le transport microbien sont les zones mortes en milieu poreux aussi appelé zones de stagnation où les flux hydriques sont nuls. Tong et Johnson (Tong et Johnson 2006) affirment qu'une partie des particules peut être retenue dans des zones mortes (ou zones d'eau immobiles). Dans un article plus récent Johnson *et al.* (Johnson *et al.* 2007) démontrent à l'aide d'un modèle mécaniste à l'échelle microscopique que la rétention mécanique de colloïdes dans une matrice poreuse peut être du : (i) au blocage pur et simple des particules au niveau des zones de contact entre grains constituant le milieu poreux (ii) à la rétention des particules dans des zones mortes. Par contre cette hypothèse ne semble pas encore avoir été testée avec des cellules bactériennes à ce jour.