Communiquer scientifiquement niveau 2

SAE33

Communique ta science dans un magazine

2023

V. Garlatti - C. Baraquet - E. Catao - JL Cadiou
Université du Sud Toulon Var

Partie I

Présentation générale

SYLLABUS

A vos plumes !

Vous êtes une Équipe de quatre scientifiques missionnés pour écrire un Numéro Spécial autour de la survie des cellules. L'Éditeur vous propose des Dossiers Thématiques pour guider votre proposition avec des revues de référence. Attention ! Ces dossiers sont trop vastes et déjà abordés maintes fois dans la littérature.

Dans la SAE31, vous résolvez une problématique brûlante dans la communauté scientifique. Vous allez maintenant rédiger, illustrer et mettre en page votre revue.

Objectifs d'apprentissage

L'objectif de la SAÉ 33 est de développer la compétence Communiquer Scientifiquement à l'écrit en français. Vous vous adressez à des scientifiques qui ne connaissent pas obligatoirement votre thématique. En L1, vous avez appris à écrire un paragraphe en langage scientifique descriptif d'un processus ou de résultats expérimentaux tout en citant les sources. En L2, vous allez apprendre à rédiger une introduction et une conclusion ainsi qu'un matériel et méthode. En L1, vous avez utilisé des logiciel d'édition tout public comme Inkscape, word ou open office writter. Cette année, vous allez apprendre à utiliser un logiciel de PAO très utilisé des scientifiques : LAteX. Vous allez travailler la mise en page à l'aide de cet outil. Nous allons également vous proposer un outil pour les figures : Biorender.

Ressources et outils à disposition

Des ressources sont proposées au sein de la SAÉ : cours et travaux dirigés sur LateX, vours et travaux dirigés de rédaction.

Le Carnet de Bord est votre outil principal pour anticiper le travail à réaliser, tracer, justifier et corriger tout ce que vous faites ainsi que faire des liens entre la SAÉ et les enseignements plus théoriques de la Licence. Le choix est fait ici de faire un carnet de bord commun aux SAÉ 31 et 33 qui sont intimement liées. Il est personnel et doit être rempli au fur et à mesure de la SAÉ. Il est divisé en trois grandes parties :

- **Présentation du carnet de bord**
- **Avant d'agir : Analyser les attendus et anticiper les actions.** Dans cette partie vous devez utiliser les sources à votre disposition pour expliciter le travail attendu de vous dans les deux SAÉ.
- **Pendant l'action : Tracer, justifier, ajuster.** Cette partie est le suivi de votre travail pendant le semestre vous avez des tableaux à remplir avant, pendant et après chaque séance. Vous devez aussi insérer les pdf des rendus intermédiaires et terminaux des SAÉ.
- **Après l'action : Prendre du recul et transférer.** Cette partie est à remplir en fin de semestre et permet de faire le bilan des compétence développer pendant le semestre. Vous devez faire notamment votre propre analyse du travail que vous avez effectuer.

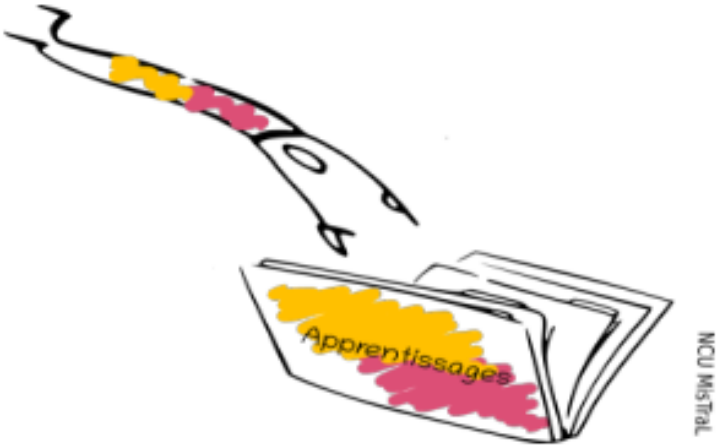
C'est le carnet de bord en cours de remplissage qui doit être déposé avant chaque tutorat. Vous devez venir en TD/TP/tutorat avec les documents de travail et le carnet de bord en format informatique.

SAE 31 et SAE 33

Carnet de Bord

JOURNAL PERSONNEL POUR MONTER EN COMPÉTENCE

Enquête sur la survie des cellules puis communique le résultat de ton travail dans un highlight



ANTICIPER ◆ TRACER ◆ JUSTIFIER ◆ AJUSTER ◆ TRANSFERER

[Prénom] [Nom] [Numéro de groupe]

FIGURE 1 – Première page du carnet de bord

Scénarisation

Les situations d'Apprentissages et d'évaluation suivent un scénario qui permet d'organiser les étapes de travail. A chaque étape, vous êtes amenés à anticiper le travail à réaliser au cours de séances de TD. Ces séances de TD sont aussi le lieu pour apprendre la méthodologie à suivre. S'en suit un temps de travail en équipe ou individuel, en absence des encadrants. Ces temps de travail sont formalisés dans l'emploi du temps sous le terme TAE : Travail Autonome Étudiant. C'est une demi-journée qui doit être consacrée au travail d'équipe sur les SAÉs. Le fruit de ce travail est finalement régulé avec l'enseignant au cours de séances de tutorat.

La SAÉ 33 est entremélée avec la SA31 de façon à aller jusqu'à la publication d'une revue pour chaque parcours. Dans la SAÉ 33, nous allons travailler sur la rédaction et l'édition :

— Utilisez LateX !

— Rédigez et illustrez !

— Mettez en page avec LaTeX

A vous de nous convaincre de vous publier !

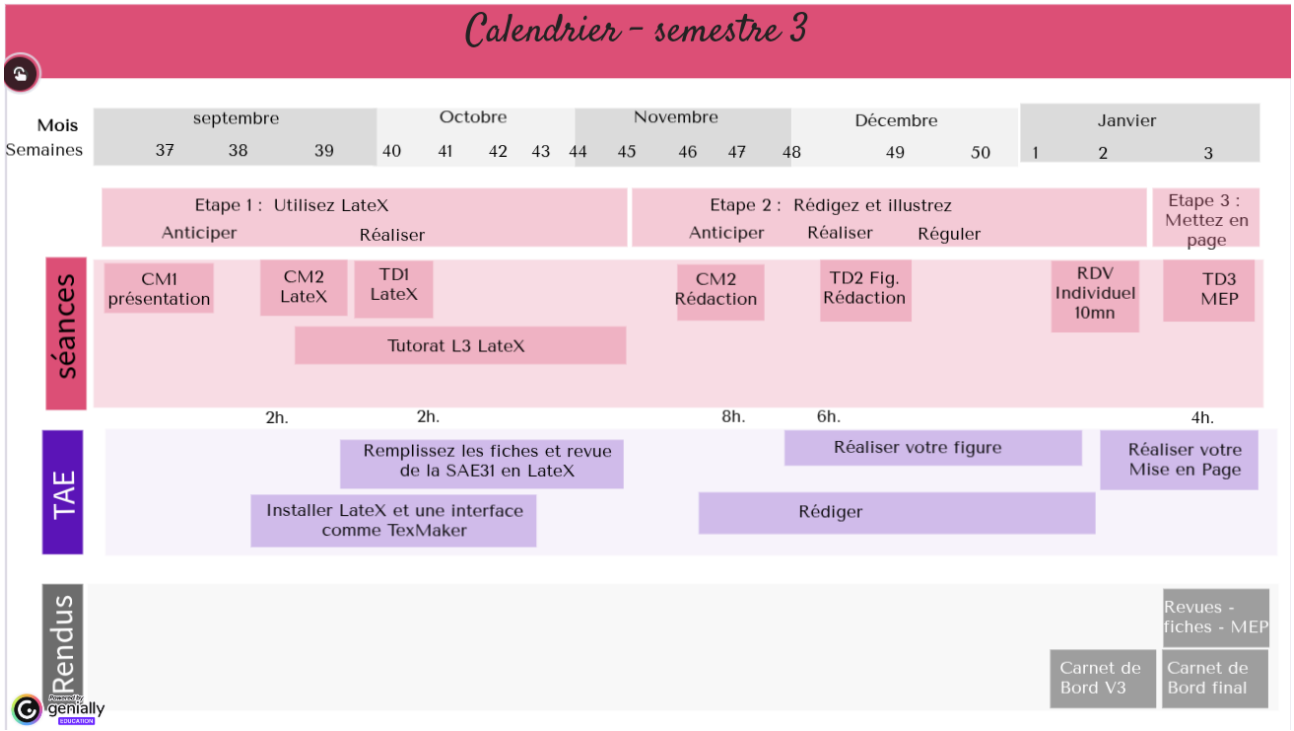


FIGURE 2 – Calendrier

Évaluation

La SAÉ est évaluée à la fois sur la démarche de l'étudiant au cours des séances, sur les livrables (fiche protocole, fiche expérience et tableur) et sur la capacité de l'étudiant à prendre du recul sur ses actions, les corriger et faire des liens entre la SAÉ et les ressources. Le carnet de bord permet d'évaluer ces deux derniers points pour chaque étudiant. Il devra être rendu dans son état d'avancement avant chaque tutorat et dans son état final semaine 3. La grille d'évaluation est en cohérence avec l'évaluation de la compétence au niveau 2.

Chaque étudiant s'engage :

- À respecter le planning imposé pour ses rendu
- À avoir préparé le travail attendu en amont des TD et des RDV
- À être présent aux RDV
- À communiquer avec les enseignants uniquement durant les créneaux dédiés
- À lire attentivement l'ensemble des documents fournis
- À respecter les formats des rendus imposés
- À utiliser les logiciels exigés par l'enseignant
- À intégrer les corrections demandées par l'enseignant en cours de SAÉ
- À respecter la législation sur le plagiat

Il existe 4 paliers dans l'évaluation finale de la SAÉ :

- ❑ **Est-ce que l'étudiant a réalisé l'action ?**
- ❑ **Est-ce que l'étudiant a réalisé une action de qualité c'est-à-dire dans le respect des composantes essentielles de la compétence ?**
- ❑ **Est-ce que l'étudiant sait justifier ses choix ?**
- ❑ **Est-ce que l'étudiant est capable de corriger et d'adapter son action ?**

Évaluation de la réalisation de l'action

Les séances de SAÉs sont obligatoires. Un étudiant qui ne serait pas présent aux séances qui servent à anticiper le travail à réaliser et ensuite réguler les propositions avec l'enseignant ne pourrait être considéré comme ayant fait l'action demandée. Le dépôt dans les temps de tout les rendus exigés entièrement rempli est aussi obligatoire. Sur ce point, la qualité de ces rendus ou la justesse des rendus n'est pas évaluée.

Évaluation de la qualité de l'action

Les livrables et le travail retranscrit sur le carnet de bord sont évalués à partir des attendus de la compétence au niveau 2. L'évaluation se fait en fin de SAÉ. Pour valider la SAÉ, il est nécessaire de réaliser les actions demandées dans le respect de l'ensemble des composantes essentielles de la compétence 3.

Évaluation de la justification

La justification du travail réalisé sera évalué sur la capacité de l'étudiant à apporter des preuves du travail qu'il réalise en dehors des séances, sur la capacité à s'appuyer sur les ressources ou autres SAÉ (partie 3) ainsi que sa capacité à expliquer ses choix et ses difficultés à l'écrit sur le carnet de bord et à l'oral en rendez-vous.

Évaluation de l'adaptabilité

Sur les livrables et dans le carnet de bord, des sous-parties et la dernière partie sont réservées à l'analyse du travail réalisé afin de corriger. Cela permettra d'évaluer si l'étudiant est capable de retro-action.

Règles de fonctionnement

Comment lire ce document

Ce document contient les objectifs et attendu de l'ensemble des séances encadrées par chaque tuteur dans l'ordre de déroulé des séances pour chaque semestre et par étape :

— Séances de travaux dirigés et de tutorat d'aide à la préparation du projet et à la réalisation du travail.

— Séances de travaux pratiques encadrées.

Pour chaque étape, vous trouverez dans une page de présentation les objectifs de la séance, ce que les étudiants doivent réaliser avant, pendant et après la séance ainsi que les modalités d'évaluation. A la suite de cette page de présentation, vous trouverez les énoncés de TD ou de TP quand cela est nécessaire ainsi que les modèles de rendus et les grilles d'évaluation pour chaque travail.

Le rôle de l'étudiant

Chaque étudiant s'engage à :

Respecter l'organisation :

— Prendre rendez-vous en temps et en heure (au moins 72h avant le RDV) avec l'équipe enseignante (via moodle) dans des créneaux imposés

— Utiliser le canal de communication imposé par l'équipe enseignante (discussion intra-équipe sur Slack, questions aux enseignants uniquement sur les créneaux de RDV et de TD prévu)

— Utiliser un matériel/des outils utilisables et utilisés par tous les membres du groupe.

— Respecter les formats imposés pour les différents rendus (pdf, A4, avec illustrations)

Respecter les consignes de validation

— Rendre l'ensemble des livrables exigés

— Se présenter à l'ensemble des séances

— Fournir un travail personnel (sauf pour les quelques documents de travail d'équipe).

Format des livrables

La Carnet de Bord doit être rendu en pdf. Les fiches de rendus doivent avoir été générées par LateX.

Le nom des fichiers ou dossier doit permettre de vous identifier. Il prendre le format suivant (sans accent ou caractère spécial) :

`NOM_Prenom_Equipe_nomdudocument`

Par exemple, le carnet de bord de Lila Dupont dans l'équipe L2SVSEGE1 doit s'appeler :

`DUPONT_Lila_L2SVSEGE1_CarnetDeBord.pdf`

Règlement d'examen de la SAÉ

Extrait du règlement d'examen

5.1 Nature des épreuves

"L'évaluation des compétences donne lieu à une note de Situation d'Apprentissage et d'Évaluation (SAÉ) qui peut être une combinaison d'épreuves organisées en présentiel et de travaux réalisés par l'étudiant en autonomie. "

"5.4 Absence aux épreuves et deuxième chance

Situations d'Apprentissage et d'Évaluation (SAÉ)

Le travail à effectuer dans le cadre d'une SAÉ doit obligatoirement être réalisé dans le temps imparti avec un strict respect des dates de rendu. Le non-respect des échéances pour la remise d'un travail ou la non participation injustifiée à une étape du travail demandé entraîne l'attribution de la note de 0/20. En cas d'absence prolongée et dûment justifiée de l'étudiant, un délai supplémentaire équivalent à la durée de l'absence peut être accordé à l'étudiant pour la remise du rapport ou du projet. Cette possibilité ne confère aucun droit pour l'étudiant. La demande doit obligatoirement être faite dans un délai de 3 jours ouvrés au plus tard après la date de la première échéance, à l'enseignant responsable de la SAÉ. Dans tous les cas de productions d'écrits qu'il réalise, l'étudiant est tenu d'y adjoindre un engagement de non-plagiat. Le principe de la seconde chance ne s'applique pas aux SAÉs."

Application des règlements

Abscences : Tout étudiant qui n'aurait pas rendu l'ensemble des documents ou qui aurait été absence de façon injustifiée aux séances ne pourra pas se voir attribuer une note supérieure ou égale à 8.

Plagiat Toute tentative de plagiat (incluant travail rédigé par d'autres, en partie copié ou l'utilisation de ChatGPT) donnera lieu à un conseil de discipline pour non respect du règlement d'examen. Le logiciel Compilatio nous permet de détecter l'ensemble de ses fraudes et est déclenché automatiquement sur Moodle.

Partie II

Séances Spécifiques à l'accompagnement de la Situation d'Apprentissage et d'Évaluation

---

Étape 1 : Utilisez LateX

Objectif de la première étape

L'objectif de cette étape est de prendre en main LateX. Pour cela vous aurez un cours suivi de deux séances de TD. Au cours de ces séances de TD, vous allez prendre en main les documents LateX de la SAE31 : les fiches problématiques, bibliographie et résolution.

CM1 LateX

L'objectif de cette séance et de vous donner les grandes bases de fonctionnement de LateX et de vous indiquer comment le charger sur l'ordinateur. Des ressources en ligne sont à votre disposition pour compléter le cours.

TD1 Compléter un document sous LateX

Objectif

A l'issue de ce TD, vous devez être capable de comprendre l'organisation des documents LateX des fiches de rendus SAE31 et de les compléter. Il n'est pas à ce stade demandé de créer vos propres mises en pages.

Préparation et déroulement

	Étudiants
Avant la séance	1) Relisez et annoter le CM sur Latex 2) Installez LateX ainsi que teXMaker. Les consignes sont indiquées dans le CM Latex et des étudiants tuteurs de L3 proposent une séance d'aide le jeudi après midi. 3) Prenez la fiche biblio et essayez de la remplir à partir d'un des document fourni par l'enseignant sur votre thème 4) Notez tout ce que vous n'arrivez pas à compiler/afficher/mettre en page
Pendant la séance	❏ Tester la compilation à l'aide des templates des fiches en se référent aux exercices demandés ❏ Tester l'insertion automatique des références avec Biblatex ❏ Remplissez le carnet de bord au cours de l'ensemble de la séance
Après la séance	❏ Remplissez les fiches au fur et à mesure avec LateX ❏ remplissez le carnet de bord ❏ Bien noter tous les beugs et comment ils ont été résolus ❏ consultez les L3 tuteur pendant les séances qu'ils proposent

Évaluation de la première étape

Vous serez évalués à chaque séance sur votre présence et la réalisation des exercices d'anticipation demandés avant d'arriver en séance. Vous devez remplir le carnet de bord au fur et à mesure de l'avancée de la SAÉ et à chaque tutorat l'enseignement notera que le travail demandé à bien été effectué dans le calendrier.

SAE 33 : TD 1 - Prise en main de LateX

Objectifs de la séance

— Vérifiez le fonctionnement des logiciels
— Prendre en main le format des fiches et de la revue.

A. Avant la séance :

1) Relisez et annoter le CM sur Latex
2) Installez LateX ainsi que teXMaker. Les consignes sont indiquées dans le CM Latex et des étudiants tuteurs de L3 proposent une séance d'aide le jeudi après midi.
3) Prenez la fiche biblio et essayez de la remplir à partir d'un des document fourni par l'enseignant sur votre thème
4) Notez tout ce que vous n'arrivez pas à compiler/afficher/mettre en page

B. Pendant la séance :

1 Remplir et compiler un fichier latex

1) Télécharger le fichier latex Fiche Bibliographique. Placez-le dans un dossier spécifique Fiche-Modèle. Ouvrez le avec texMaker ou Kyle et réalisez une compilation pdflatex.
2) Regardez le résultat de la compilation soit sous le fichier latex soit dans le fichier .log généré par la compilation et notez les erreurs.
3) Regardez le rendu pdf et faites la listes des défauts.
4) réfléchissez pour corriger les erreurs s'il y en a Appelez l'enseignant

Modifier le format de la fiche et le contenu :

1) Remplissez la fiche bibliographie en utilisant la revue fournie par l'enseignant et réitérez l'exercice.
2) Changer du texte, des couleurs puis compiler
3) Changer le format de parties de texte : gras, italique, souligné, couleur
4) Insérez une équation mathématique et une réaction chimique dans la fiche bibliographie
5) Insérez une figure de votre choix dans la fiche bibliographie
6) remplissez le carnet de bord

2 Citer ses sources avec bibtex

a. Le fichier avec toutes les références .bib

L'année dernière vous avez rempli à la main les références dans votre texte. Des outils existent pour mieux gérer les références. Chaque logiciel de traitement de texte a son format pour gérer

les références. Sur LateX, se sont les modules Biblatex qui gèrent cela. Vous allez utiliser un fichier .bib dont le format est très standardisé qui regroupe toute votre bibliographie. Pour obtenir ce fichier :

— ouvrez zotero et placez vous sur la collection qui correspond à votre thème
— cliquez droit et choisissez "exporter la collection"
— Choisissez le format Biblatex dans le menu déroulant et gardez unicode-UTF8
— validez
— Ouvrez le fichier .bib que vous avez téléchargé. Nommez le : BibBGB1-NomdeFamille.bib.

La fichier .bib est organisé : :

— par type de référence : @article pour les articles et les revues, @book pour les livres par exemple.
— suivi du nom de code de la référence :

```
Auteur_motclef_année
```

— chaque champ qui suit donne une information sur l'article sur le modèle year = 2021, la virgule termine la ligne
— AJOUTEZ pour chacune de vos références un item

```
keyword = {NOMDEFAMILLE},
```

ici remplacez NOMDEFAMILLE par votre Nom de Famille.

b. Appeler les références dans un fichier .tex

Pour que les références soient intégrées dans votre fichier, il faut dire quel est le fichier .bib. Cette étape est réalisée dans l'entête.

a. Cherchez la ligne qui appelle le fichier bib dans la fiche résolution et dans le fichier modèle revue.tex

b. Remplacez le nom du fichier .bib dans la fiche résolution par le nom de votre fichier.

Il faut également informer sur le lieu d'intégration de la référence en format court dans le texte.

c. Pour cela, choisissez une référence et associez là à un paragraph dans la fiche résolution en intégrant

```
\citep{code d'un de vos références.}
```

Il faut également informer sur où doit s'afficher l'ensemble de la bibliographie que vous utilisez. Vous trouverez à la fin de la fiche résolution :

```
\printbibliography[heading=subbibliography,title={Références}]
```

Ajoutez dans les crochets : ,keywords=NOMDEFAMILLE

```
\printbibliography[heading=subbibliography,title={Références},keywords=NOMDEFAMILLE]
```

Finalement, compilez la fiche résolution en changeant d'outil de compilation :

1. Action 1 : pdflatex
2. Action 2 : bibtex
3. Action 3 : pdflatex

Étape 2 : Rédigez et illustrez

Objectif de la deuxième étape

L'objectif de la deuxième étape est de travailler la rédaction de votre revue et l'illustration. Vous devez rédiger en groupe une introduction et une conclusion de vos 4 revues. Vous devez rédiger individuellement une revue avec une introduction, une conclusion et plusieurs sous parties d'une page maximum. Vous devez réaliser une illustration complète d'une page. Le modèle de revue est fourni au format .tex.

CM2 Rédaction et illustration

L'objectif de cette séance et de compléter les consignes de rédaction que vous avez eu l'année dernière.

TD2 partie Rédaction

	Étudiants
Avant la séance	❏ Essayez de rédiger vos introductions ❏ Essayez de rédiger vos conclusions ❏ Bien définir vos titres de vos plans ❏ remplissez le carnet de bord
Pendant la séance	❏ Reprenez l'introduction et la conclusion de groupe en début de séance ❏ Demandez une correction à l'enseignant ❏ Montrez vos titres à l'enseignant ❏ remplissez le carnet de bord
Après la séance	❏ Terminer la rédaction en insérant bien vos citations ❏ Insérez votre texte dans le document LateX et reprenez le jusqu'à qu'il soit assez concis pour rentrer dans le format. ❏ remplissez le carnet de bord

TD2 : Partie Figure

	Étudiants
Avant la séance	❏ Créez vous un compte sur Biorender ❏ Finissez l'organisation de votre figure ❏ Écrivez la légende de votre figure ❏ remplissez le carnet de bord
Pendant la séance	❏ Faites relire la légende par vos pairs puis par l'enseignant ❏ Travaillez sur le rendu esthétique de votre figure en utilisant les outils Biorender et Inkscape ❏ Consulter l'enseignant ❏ remplissez le carnet de bord
Après la séance	❏ terminez la figure ❏ remplissez le carnet de bord

Tutorats semaine 2

Vous aurez semaine 50 10mn de tutorat par étudiant pour reprendre la rédaction et l'illustration de votre revue.

	Étudiants
Avant la séance	❏ Remplir le carnet de bord autant que vous pouvez sur la partie SAE33 (jaune) et insérez l'avancée de votre revue ❏ travaillez bien l'espace question à poser pendant le tutorat. ❏ s'inscrire deux jours à l'avance au plus tard sur les créneaux de tutorat
Pendant la séance	❏ Prendre impérativement des notes sur les corrections demandées par l'enseignant (dans votre carnet de bord)
Après la séance	❏ Corriger les rendus et le carnet de bord à la suite du rendez-vous. Vous devez laisser dans le carnet de bord toutes les versions des fiches

Évaluation

Les grilles d'évaluations sont indiquées disponibles sur l'espace moodle.

Rédiger sa revue

Les points d'attention pour rédiger sa revue

La rédaction de votre revue doit tenir compte du travail déjà effectué en L1 en ce qui concerne chaque paragraphe rédigé mais doit s'enrichir des ajouts de deuxième année

- **Niveau L1** : un texte d'auto-évaluation est disponible sur la page moodle. La première question concerne les points centraux de rédaction corrigés en L1.
- **Introductions** : Une introduction complète est demandée pour introduire le travail de chaque équipe. Chaque membre de l'équipe réalise une micro-introduction de sa partie (3-4 phrases)
- **Conclusion** : Une conclusion complète est demandée pour conclure le travail de chaque équipe. Chaque membre de l'équipe réalise une micro-conclusion de sa partie (2-3 phrases)
- **Titres** : Vos titres doivent être explicites et attractifs (surtout le titre de votre travail d'équipe et de votre highlight)

Objectifs de la séance

- Travailler l'introduction et la conclusion d'équipe
- Travailler les titres

A. Avant la séance :

1) Bien retravailler vos problématiques avec une phrase de contextes/connaissances qui justifie votre approche. Cette phrase doit être référencée comme le reste de votre introduction.
2) Préparer les revues/livres avec les informations générales sur le thème
3) Venir avec l'ensemble de vos fiches et votre carnet de bord remplis

B. Pendant la séance :

1) Analyser une introduction (exemple à la suite)
   - Trouvez les trois parties vues en cours : Emmener le sujet, poser la problématique, annoncer le plan.
   - Trouvez les termes importants définis dans cette introduction
   - Soulignez la problématique
   - Surlignez les références dans le texte et dans la bibliographie
2) Rédigez introduction de groupe
   - Stabilisez votre problématique
   - Rédigez votre annonce de plan
   - Listez les mots à définir pour l'ensemble de vos highlights
   - Préparez des étapes de rédaction de la partie emmener le sujet. Cela doit constituer un entonnoir (du plus général au plus spécifique) qui emmène à votre problématique
3) Rédigez votre conclusion de groupe

- Bilan réalisez une à deux phrases par highlight
- Perspective : indiquez des travaux futurs/en cours ou dans un domaine proche

4) Rédigez vos titres
   - Allez sur le site de l'Américan Society of Microbiology et notez des titres de revue/partie/sous-parties qui vous semblent attractifs et explicites
   - Définissez votre titre d'équipe puis les titres de chaque highlight puis les titres de vos sous-parties

C. Après la séance la séance :

Terminez le travail de rédaction de votre revue et remplissez le carnet de bord. Utilisez le test d'auto-évaluation pour vous corriger.

Author Manuscript
Author Manuscript
Author Manuscript
Author Manuscript

HHS Public Access
Author manuscript
Cell Host Microbe. Author manuscript; available in PMC 2020 July 10.

Published in final edited form as:
Cell Host Microbe. 2019 July 10; 26(1): 15–21. doi:10.1016/j.chom.2019.06.002.

Surviving as a community: antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms

Jing Yan[a,b] and **Bonnie L. Bassler**[b,c,*]

[a]Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Princeton University, Princeton, NJ 08544 USA

[b]Department of Molecular Biology, Princeton University, Princeton, NJ 08544 USA

[c]The Howard Hughes Medical Institute, Chevy Chase, MD 20815 USA

Abstract

Biofilms are surface-associated bacterial communities that play both beneficial and harmful roles in nature, in medicine, and in industry. Tolerant and persister cells are thought to underlie biofilm-related bacterial recurrence in medical and industrial contexts. Here, we review recent progress aimed at understanding the mechanical features that drive biofilm resilience and the biofilm formation process at single-cell resolution. We discuss findings regarding mechanisms underlying bacterial tolerance and persistence in biofilms and how these phenotypes are linked to antibiotic resistance. New strategies for combatting tolerance and persistence in biofilms and possible methods for biofilm eradication are highlighted to inspire future development.

Introduction

We live in societies made of individuals with interacting social connections and enduring architectural infrastructures. On a six order of magnitude smaller scale, bacterial cells also build microbial cities called biofilms in which individual cells and groups of cells interact and a global infrastructure is assembled. Biofilms are surface-attached communities of bacteria embedded in an extracellular matrix (Hall-Stoodley et al., 2004). Biofilms can be beneficial for health, for example, as normal components of plant, animal, and human microbiomes and they can be crucial for effective industrial processes such as wastewater treatment. However, often, biofilms cause major problems: in medicine, biofilms underlie chronic infections, and in industry, biofilms foul surfaces of pipes and clog filtration devices.

Biofilm eradication, whether in medicine or industry, is remarkably difficult. One feature thought to underlie biofilm tenacity is that biofilm communities can harbor tolerant and persister cells (Lewis, 2005): cells that can survive transient antibiotic treatment and that regrow when the antibiotic is withdrawn (Brauner et al., 2016). Indeed, both hyper-biofilm-

*Correspondence: bbassler@princeton.edu.

Publisher's Disclaimer: This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final citable form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

forming mutants and mutants exhibiting enhanced persistence are isolated from patients with chronic infections (Hall-Stoodley et al., 2004; Lewis, 2010). In this Mini Review, we summarize recent progress in the understanding of biofilm formation, focusing on the mechanical attributes of biofilms that endow them with their remarkable resilience. We highlight progress aimed at defining mechanisms underlying the tolerant and persister phenotypes. Finally, we provide an overview of exciting new strategies for combatting harmful bacterial biofilms.

Biofilm matrices: mechanical shelters for bacterial cells

A defining feature of a biofilm is the presence of the extracellular matrix, made up of extracellular polymeric substances (EPS) secreted by the cells dwelling inside (Hall-Stoodley et al., 2004). The EPS is usually a mixture of polysaccharides, proteins, extracellular DNA (eDNA), and other minor components. The physical and chemical properties of the biofilm matrix constituents coupled with their particular interactions give rise to the global biofilm mechanical properties. These properties allow the matrix to shield the resident cells from desiccation, chemical perturbation, invasion by other bacteria, and killing by predators. The matrix also provides the mechanical properties necessary to protect the cells from external forces such as fluid shear and to ensure the biofilm community remains attached to a surface. In the context of infectious biofilms, neutrophils can only ingest pathogens smaller than 10 μm, thus, participating in the biofilm lifestyle protects individual bacteria and small bacterial clusters from neutrophil attack. Moreover, to access biofilm-dwelling bacteria, neutrophils need to first break biofilms (~100 μm) into smaller pieces. However, neutrophils can only exert stress up to ~1 kPa during phagocytosis (Kovach et al., 2017), so biofilm mechanics could potentially prevent neutrophils from making biofilm cells available for killing.

Tools and concepts from the rheology field have been adapted to quantitatively define biofilm mechanical properties. Rheology is the study of viscoelastic materials: materials that have both solid and liquid properties (Billings et al., 2015). For rheologic measurements, biofilms are sandwiched between parallel plates and subjected to shearing (Figure 1A, *Left*). These analyses define the elastic modulus, which is the stiffness of the biofilm at small deformation, and the yield strain, which is how much deformation a biofilm can sustain before it fails (Figure 1A, *Right*) (Kovach et al., 2017). The product of the elastic modulus and the yield strain defines the yield stress, which is the minimum force needed to cause a biofilm to fail. Below we summarize insight gained from recent rheological measurements of three model biofilm forming species: *Vibrio cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus epidermidis*.

V. cholerae is the causative agent of the pandemic disease cholerae. The major *V. cholerae* biofilm matrix component is the *Vibrio* polysaccharide (VPS) and there are three matrix proteins RbmA, Bap1, and RbmC (Teschler et al., 2015). Deletion of genes encoding matrix components, followed by rheological measurements, enabled the mechanical properties of *V. cholerae* biofilms to be defined (Yan et al., 2018). The *V. cholerae* biofilm can be described as a double-networked hydrogel with an elastic modulus of ~1kPa. One network is formed by the VPS polysaccharide reinforced by RbmC and Bap1, and the second network is

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

formed by the cells connected by RbmA (Figure 1B). Elimination of RbmA or RbmC/Bap1 weakens the dual network and reduces the elastic modulus. Elimination of all three matrix proteins causes the VPS to swell, resulting in an increased yield strain but at the expense of a highly reduced elastic modulus. Only when all the matrix components are present do *V. cholerae* biofilms possess a large enough yield stress (~100 Pa) to withstand the flow regimes they experience in their natural habitat, for example, on sinking marine snow.

P. aeruginosa is an opportunistic pathogen that forms chronic biofilm infections in patients with compromised immune systems, burns, in-dwelling devices, and cystic fibrosis (CF). Combinations of three polysaccharides can be present in the *P. aeruginosa* biofilm matrix: Psl, Pel, and alginate (Kovach et al., 2017). Rheological measurements using the model virulent strain PAO1 and isolates from CF lungs show that Psl, together with its cross-linking protein CdrA, are the main contributors to the biofilm elastic modulus (Kovach et al., 2017). Overproduction of Pel increases the biofilm yield strain but does not alter the elastic modulus. Pel is positively changed and it binds eDNA (Jennings et al., 2015). Pel-eDNA interactions could be instrumental in driving overall biofilm mechanics, but this aspect has not yet been studied. Mucoid *P. aeruginosa* biofilms that overproduce alginate are fluid-like, possessing reduced elastic modulus and reduced yield stress compared to PAO1 biofilms (Gloag et al., 2018). In CF patients, cells in *P. aeruginosa* biofilms tend to increase both alginate and Psl production. Alginate overproduction causes a decrease in yield stress that is compensated for via overproduction of Psl. Together, these alterations enable the biofilm to preserve its original yield stress (Kovach et al., 2017). It is possible that maintaining a minimum yield stress is required for *P. aeruginosa* biofilm cells to avoid immune clearance. The unique combinations of matrix components displayed by different *P. aeruginosa* strains suggest that such blends promote distinct biofilm mechanical properties, each presumably optimized for a particular environmental condition.

S. epidermidis is a member of the human skin microbiome but also occurs in medical device and hospital acquired infections. The main *S. epidermidis* matrix component is called polysaccharide intercellular adhesin (PIA), a positively charged polymer (Otto, 2009). At low pH, purified PIA in solution possesses concentration-dependent viscoelasticity that is well described by the classical model of associative polymers: polymers that can both physically entangle and chemically interact through hydrogen bonding (Ganesan et al., 2016). The main contribution to biofilm rheology, however, stems from chemical interactions, as the concentration of PIA in biofilms is too low for physical entanglement. At pH = 7 (or lower), PIA associates, becomes unstable in solution, and it phase separates together with the *S. epidermidis* cells to form biofilm-like structures with rheological properties similar to native *S. epidermidis* biofilms (Stewart et al., 2015). Indeed, simply increasing the pH above 7 was sufficient to stabilize PIA and make *S. epidermidis* biofilms more malleable. The strong pH-dependent phase behavior exhibited by PIA suggests *S. epidermidis* biofilms may possess distinct mechanical properties in particular local infection environments.

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

Biofilm architectures: from individual cells to macroscopic communities

Until recently, there was little understanding of how cells are arranged within biofilms and how 3D biofilm structures are built cell by cell. Custom high-resolution confocal microscopy technologies and companion imaging analysis algorithms were developed that enabled investigation of biofilms at single cell resolution. Initially, high-resolution confocal laser scanning microscopy was used to extract spatial information regarding fixed cells in *S. epidermidis* biofilms (Stewart et al., 2013). By tracking the centers of the spherical cells and analyzing the local cell density and cluster distribution, local biofilm compactness parameters were defined and were discovered to vary within an *S. epidermidis* biofilm. In regions with high and medium cell density, nearly all of the cells were present in a single cluster that exhibited characteristics of a dense disordered fluid. In regions of sparse cell density, cell clusters displayed open, fractal features similar to colloidal gels. Upon osmotic stresses (high salt concentration) or antibiotic challenge (vancomycin), however, the *S. epidermidis* biofilm structure only exhibited the low-density phenotype. The mechanism(s) driving these regional packing differences is unclear. We hypothesize that, as highlighted in the preceding section, local variations in pH or in PIA concentration that alter PIA solution behavior could lead to distinct biofilm packing density phenotypes.

Images of fixed *V. cholerae* cells obtained at different times during biofilm formation were acquired to learn how cell arrangement changes as biofilms mature (Drescher et al., 2016). The community transitions from a 2D branched morphology to a dense 3D cluster. In the mature *V. cholerae* biofilm cluster, vertical cells reside at the biofilm center and radially orientated cells are at the periphery. This entire sequence of structural transitions was subsequently visualized in living, growing *V. cholerae* biofilms (Figure 2A–B) (Yan et al., 2016). Mutagenesis coupled with matrix labeling showed that *V. cholerae* biofilms lacking cell-surface adhesion due to deletion of *rbmC* and *bap1* exhibit normal cell density but show no cell ordering. By contrast, biofilms lacking cell-cell connections due to deletion of *rbmA* display reduced cell packing density and enhanced vertical cell alignment.

To explore the forces driving structural transitions in *V. cholerae* biofilms, agent-based simulations were developed to investigate cell-surface interactions (Beroz et al., 2018). When a biofilm begins to form on a surface, it expands outward from the founder cell, as a one-cell-layer thick 2D film. During expansion, cells experience increasing mechanical pressure as they divide and push against their neighbors. These neighboring cells, in turn, resist the pushing force via surface adhesion. Ultimately, the pressure from pushing exceeds the cell-to-surface adhesion force and causes individual cells to reorient at the center of the biofilm where the pressure is the greatest. Cells transition from aligning parallel to aligning perpendicular to the substrate. When verticalized cells divide, they place their offspring further into the third dimension, thus the biofilm gradually transitions from a 2D surface layer to a mature 3D community (Figure 2C). To bolster these theoretical arguments, *V. cholerae* cell lengths were manipulated using chemicals. The timing of verticalization was altered: biofilms with shorter (longer) cells transitioned from 2D to 3D earlier (later) than cells of normal length, because shorter (longer) cells required lower (higher) critical forces to drive verticalization. A consequence of altering cell length was to change the overall width to height ratio of the resulting biofilm (Figure 2D).

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

Tolerance and persistence: how bacterial cells survive antibiotic challenge

Antibiotic resistance is caused by mutations that make a bacterial cell impervious to the toxic effect of the antibiotic, endowing that cell and its descendants with a selective growth advantage over non-resistant cells. Beyond classic resistance mechanisms, bacteria can display “tolerance”, the ability to survive transient exposure to high concentrations of an antibiotic (Brauner et al., 2016). Tolerant bacteria grow slower or have longer non-growing lag times when they exit stationary phase than their non-tolerant counterparts. Common targets of antibiotics, e.g., RNA polymerase, cell-wall biosynthetic enzymes, exhibit low activity in non-growing cells, and thus, slow-growing or non-growing cells can evade killing. In this respect, tolerance differs fundamentally from resistance, as resistance is usually specific to one antibiotic or one class of antibiotics.

Tolerant cells display a longer minimum duration of killing by an antibiotic than non-tolerant cells, enabling tolerant cells to enjoy a selective advantage during transient or periodic antibiotic treatment (Brauner et al., 2016). Indeed, tolerant *Escherichia coli* cells spontaneously arose after repeated cycles of ampicillin treatment (Fridman et al., 2014). The increased lag time the *E. coli* cells exhibited matched the duration of ampicillin exposure. Because antibiotic treatment usually occurs in timed doses, patients experience periodic fluctuations in antibiotic concentration, likely favoring the emergence of tolerant cells.

Mutations in genes encoding a methionyl-tRNA synthetase, ribose-phosphate diphosphokinase, and toxin-antitoxin (TA) modules all promote tolerance by extending lag phase (Fridman et al., 2014). It is hypothesized that a sequential relationship exists between bacterial tolerance and bacterial resistance. Indeed, in an experiment probing periodic ampicillin treatment that mimicked medical practice, resistant *E. coli* strains isolated at the end of the experiment all arose from ancestral, tolerant strains (Figure 3A) (Levin-Reisman et al., 2017). The logic is that tolerance mutations occur more frequently than resistance mutations due to a larger target size of the former: there are many genes that when mutated confer tolerance while mutations in only a few genes confer resistance to a particular antibiotic. Once a tolerant mutant becomes established in the population, its presence gives the rarer, resistance mutations more opportunities to occur (Brauner et al., 2016; Levin-Reisman et al., 2017).

Another form of tolerance, not obtained through heritable mutations but rather through phenotypic differentiation, is called persistence (Balaban et al., 2004; Lewis, 2005). Originally observed by Bigger (Bigger, 1944), bacterial persistence is receiving renewed interest due to its medical relevance, in particular, in the context of biofilms (Lewis, 2005). Time dependent antibiotic killing of a bacterial population shows that actively growing cells are killed first whereas persister cells are killed in a second phase at a much lower rate. Visualization of individual bacterial cells established that, prior to antibiotic treatment, an exponentially growing bacterial population contains a pre-existing fraction of non-growing cells (Balaban et al., 2004). It is this sub-population that survives antibiotic treatment and regrows after the antibiotic is withdrawn. Another source of persister cells are those that have become dormant during stationary phase. Such cells are simply carried over to the new culture upon sub-culturing.

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

The mechanisms driving subpopulations of cells to enter the persistent state are the subject of intense research and debate. One mechanism involves toxin-antitoxin (TA) modules (Lewis, 2005; Rotem et al., 2010). Indeed, the first identified high-persistence *E. coli* strain harbors a mutation in *hipAB* encoding a TA module (Moyed and Bertrand, 1983). The HipA toxin is a serine-protein kinase that phosphorylates GltX, a glutamyl-tRNA synthetase. HipA is inactivated by the companion antitoxin HipB (Schumacher et al., 2015). When HipA levels exceed a threshold in a cell due to stochastic fluctuations, protein synthesis is inhibited, and as a consequence, cell growth is arrested (Rotem et al., 2010). Growth-arrested cells can become persisters. The originally isolated high-persister strain possesses a mutation that impairs HipA-HipB binding (Schumacher et al., 2015), which increases the chances of cells of this strain entering the growth-arrested state. TA modules do not appear to underlie persistence in *Staphylococcus aureus* as elimination of all TAs had no effect on persister cell formation (Conlon et al., 2016). Rather, some *S. aureus* cells stochastically enter into stationary phase earlier than others to become persister cells. In this case, stationary phase entry is accompanied by a decrease in intracellular ATP levels, which, in turn, reduces the activity of ATP-dependent antibiotic targets (DNA gyrase, DNA topoisomerase, RNA polymerases, etc.). Therefore, stationary phase *S. aureus* cells are naturally prone to becoming persister cells. Lastly, genomic studies of *E. coli* and *P. aeruginosa* have identified many metabolic genes connected to persister cell formation (Amato et al., 2014).

Normally, persister cells make up from 10^{-2} to 10^{-5} of a population, so such cells might seemingly not be clinically relevant given that the goal of antibiotic treatment is to eliminate the majority of actively growing pathogens and to expect the immune system to clear the remainder (Lewis, 2010). However, persister cells may be dangerous to particular patient populations. In immunocompromised individuals, persister cells can likely regrow. In some diseases such as tuberculosis, antibiotic treatment must drive pathogens to very low numbers to achieve a clinical outcome. In such cases, persister cells could be problematic. In chronic infections, such as those in CF patients, high-persister mutants can be isolated after prolonged antibiotic treatment (Lewis, 2010). In these real-life cases, persister cells could be present and not eliminated by current drug regimes.

Tolerance and persistence in bacterial biofilms

The ability of biofilms to house tolerant and persister cells is proposed to underlie the difficulties encountered in eliminating biofilms during chronic infections (Lewis, 2005). Impeded antibiotic penetration into biofilms was initially proposed to be responsible, however it is now known that the matrix mesh size is much larger than antibiotic molecules (Ganesan et al., 2016; Yan et al., 2018), and most antibiotics do not interact strongly with biofilm matrix components (Spoering and Lewis, 2001). Rather, increased antibiotic tolerance and persistence in biofilms likely arises from altered physiology of biofilm cells. Cells buried inside thick biofilms could be in stationary phase, as penetration of nutrients and oxygen are known to be limited due to consumption by peripherally-located cells (Walters et al., 2003). Indeed, increasing evidence supports similarities between the physiological states of biofilm-dwelling cells and stationary phase planktonic cells. For example, the levels of persister cell formation by *P. aeruginosa* are comparable in the biofilm

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

state and in stationary phase (Spoering and Lewis, 2001). Likewise, antibiotic tolerance phenotypes of *S. aureus* biofilm cells, stationary phase planktonic cells, and persister cells are strikingly similar. (Waters et al., 2016). Nutrient starvation, a common environmental situation encountered during both biofilm formation and entrance into stationary phase could promote antibiotic tolerance and persister cell formation by triggering the stringent response (Nguyen et al., 2011). In *P. aeruginosa* biofilms, disabling the stringent response via deletion of both *relA* and *spoT* leads to a 1,000-fold reduction in cell survival upon antibiotic treatment. The Δ*relA* Δ*spoT* mutant cells possess impaired antioxidant defenses and increased oxidant production, which, together, sensitize the cells to antibiotic treatment and to nutrient limitation. Indeed, even in the absence of antibiotics, spontaneous death of the Δ*relA* Δ*spoT P. aeruginosa* cells occurs in the nutrient-limited interior regions of biofilm clusters (Figure 3B). Although there are some results suggesting specific genes drive persister cell formation exclusively in biofilms (Harrison et al., 2009), the current notion is that mechanisms underlying persister cell formation under planktonic conditions apply to persister cell formation in biofilms.

Even if the mechanisms giving rise to persister cells in biofilms and in planktonic environments are similar or identical, persister cells in *in vivo* biofilms could be particularly tenacious because the biofilm matrix provides a physical barrier that protects the persister cells from immune components (Lewis, 2005). As mentioned above, *in vivo* biofilm stiffness could exceed the maximum mechanical stress neutrophils are capable of exerting, in the present context, preventing neutrophils from accessing persister cells buried deep in the interior of a biofilm. Moreover, the rigidity of the biofilm matrix scaffold remains even if the majority of the biofilm cells have been killed by antibiotics (Zrelli et al., 2013). Such residual structures could harbor tolerant or persister cells that can regrow and cause recurrent infections.

New strategies to target tolerant and persister cells in biofilms

The notion that biofilms provide a “safe haven” for persister cells to arise and evade antibiotics and immune components suggests that entire biofilm structures must be removed from infection sites for successful elimination of pathogens. Mechanical debridement (scraping of biofilms from wounds) is the standard-of-care for chronic wounds (Gordon et al., 2017). However, it is difficult to completely remove all cells once a biofilm is sheared into pieces. Moreover, this arduous process can only be applied to infected regions that are exposed and thus amenable to mechanical manipulation. To address this challenge, a capillary peeling method has been developed in which liquid is slowly applied to a biofilm grown at an air-solid interface and capillary forces gently peel the biofilm off in its entirety (Yan et al., 2018). This method applies to a variety of surfaces including metals, hydrogels, and membranes and to biofilms formed by different bacterial species. This new method does not yet address situations in which biofilms are submerged or reside internally in patients.

In instances of internal biofilms, chemicals that induce biofilm dispersal have been pursued alone or in combination with antibiotic treatment. Examples include Dispersin B that degrades poly-N-acetylglucosamine, a common biofilm matrix component (McDougald et al., 2012). An unsaturated fatty acid produced by *P. aeruginosa*, *cis*-2-decenoic acid, can

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

trigger the dispersal of cells from biofilms formed by a range of bacteria including *P. aeruginosa* itself (Davies and Marques, 2009). Once the bacterial cells are dispersed into the solution, they become vulnerable to clearance by the immune system and/or killing by antibiotics. To date, Dispersin B is marketed as an ingredient in a wound care gel and as a medical device coating. In both cases, when Dispersin B is combined with antibiotics, the compound shows efficacy in prevention of bacterial infections (Kaplan, 2010).

Regarding targeting and eliminating tolerant or persistent cells, *E. coli* and *S. aureus* persister cells in biofilms can be re-sensitized to an aminoglycoside antibiotic by providing metabolites that generate a proton-motive force facilitating aminoglycoside uptake (Allison et al., 2011). Interestingly, the above dispersal promoting molecule *cis*-2-decenoic acid can also transform *P. aeruginosa* and *E. coli* persister cells from dormant to metabolically active (Marques et al., 2014). Again, this change renders the cells susceptible to antibiotics. Another good example is provided by the acyldepsipeptide antibiotic ADEP4, which kills persister cells in *S. aureus* biofilms via activation of ClpP (Conlon et al., 2013). ADEP4-activated ClpP exhibits promiscuous protease activity, cleaves essential proteins, and causes persister cells to die. Together with rifampicin, ADEP4 treatment successfully eradicated *S. aureus* biofilms both *in vitro* and in a mouse model.

Other clever strategies to eliminate chronic infections are being developed and have potential for use to combat persister cells in biofilms. Here, we provide one new example as a representative to highlight these emerging applications. The membranes of *S. aureus* and other Gram-positive bacteria contain functional membrane microdomains (FMM) similar to lipid rafts in eukaryotic membranes. The FMM of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) contain a high level of staphyloxanthin, an essential membrane-bound antioxidant. Illuminating MRSA with blue light promotes degradation of staphyloxanthin and sensitizes MRSA to reactive oxygen attack, both in the planktonic and biofilm states. Treatment with light was effective in a mouse wound infection model (Dong et al., 2019). Whether such a mechanism is generalizable remains to be tested, and the delivery method (light in this case) might also restrict its use due to penetration issues for thick tissues.

Perspectives

Biofilm formation and persister cell formation can be viewed as two types of collective bacterial behaviors. In the case of biofilm formation, bacterial cells collectively produce extracellular matrices, a public good that profits the entire community. In the case of persister cell formation, the entire population benefits when, a subpopulation of cells survives a hostile environment in which the majority of cells perish. Combining these two collective lifestyles endows the bacteria with powerful mechanisms to survive harsh perturbations, including mechanical stress and antibiotic treatment. This good news for the bacteria presents humanity with a serious challenge regarding chronic infections.

To address this challenge, a deeper understanding of the biofilm formation process, biofilm mechanics, tolerance, and persistence is necessary. We expect new technologies to provide insight into how biofilm mechanics arise from particular steps in biofilm development and the features mechanics provide to these living structures. Simultaneous single-cell resolution

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

biofilm imaging and rheological measurements will allow interesting questions to be answered including: what happens at the single-cell level during biofilm failure or detachment? How does the biofilm internal structure evolve as the biofilm relaxes stress? How does local cellular configuration determine the local biofilm stiffness and do weak regions exist in biofilms that could be exploited to drive failure? Such measurements could provide a comprehensive understanding of biofilms as dynamic living materials.

Regarding tolerant and persister cells, additional evidence is required to confirm their presence in biofilms, especially *in vivo* during disease. Single-cell visualization of the process of tolerant/persister cell birth to non-growth to rejuvenation in a biofilm will yield valuable information. Questions that can be addressed include: Where and when do tolerant/persister cells arise in spatially-structured biofilms and what is their spatial distribution? Which cells enjoy the mechanical protection provided by the matrix, what selects them, and are their locations pre-defined or random? How do persistent/tolerant cells deal with debris left by cells that have been killed by antibiotics? Ultimately, a deep understanding of the behaviors of all cells in biofilms, both at the individual and collective levels, could lead to currently unimaginable strategies to combat harmful biofilms and to promote beneficial biofilms.

Acknowledgements

This work was supported by the Howard Hughes Medical Institute, National Science Foundation Grant MCB-1713731, NIH Grant 2R37GM065859, and the Max Planck Society-Alexander von Humboldt Foundation (B.L.B.). J.Y. holds a Career Award at the Scientific Interface from the Burroughs Wellcome Fund.

References

Allison KR, Brynildsen MP, and Collins JJ (2011). Metabolite-enabled eradication of bacterial persisters by aminoglycosides. Nature 473, 216–220. [PubMed: 21562562]

Amato S,M, Fazen CH, Henry TC, Mok WWK, Orman MA, Sandvik EL, Volzing KG, and Brynildsen MP (2014). The role of metabolism in bacterial persistence. Front. Microbiol 5, 70. [PubMed: 24624123]

Balaban NQ, Merrin J, Chait R, Kowalik L, and Leibler S (2004). Bacterial persistence as a phenotypic switch. Science 305, 1622–1625. [PubMed: 15308767]

Beroz F, Yan J, Meir Y, Sabass B, Stone HA, Bassler BL, and Wingreen NS (2018). Verticalization of bacterial biofilms. Nat. Phys 14, 954–960. [PubMed: 30906420]

Bigger JW (1944). Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilisation. Lancet 244, 497–500.

Billings N, Birjiniuk A, Samad TS, Doyle PS, and Ribbeck K (2015). Material properties of biofilms — a review of methods for understanding permeability and mechanics. Rep. Prog. Phys 78, 036601. [PubMed: 25719969]

Brauner A, Fridman O, Gefen O, and Balaban NQ (2016). Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. Nat. Rev. Microbiol 14, 320–330. [PubMed: 27080241]

Conlon BP, Nakayasu ES, Fleck LE, LaFleur MD, Isabella VM, Coleman K, Leonard SN, Smith RD, Adkins JN, and Lewis K (2013). Activated ClpP kills persisters and eradicates a chronic biofilm infection. Nature 503, 365–370. [PubMed: 24226776]

Conlon BP, Rowe SE, Gandt AB, Nuxoll AS, Donegan NP, Zalis EA, Clair G, Adkins JN, Cheung AL, and Lewis K (2016). Persister formation *in Staphylococcus aureus* is associated with ATP depletion. Nat. Microbiol 1, 16051.

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

Davies DG, and Marques CNH (2009). A fatty acid messenger is responsible for inducing dispersion in microbial biofilms. J. Bacteriol 191, 1393–1403. [PubMed: 19074399]

Dong P-T, Mohammad H, Hui J, Leanse LG, Li J, Liang L, Dai T, Seleem MN, and Cheng J-X (2019). Photolysis of staphyloxanthin in methicillin-resistant Staphylococcus aureus potentiates killing by reactive oxygen species. Adv. Sci 1900030.

Drescher K, Dunkel J, Nadell CD, van Teeffelen S, Grnja I, Wingreen NS, Stone HA, and Bassler BL (2016). Architectural transitions in *Vibrio cholerae* biofilms at single-cell resolution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 113, E2066–2072. [PubMed: 26933214]

Fridman O, Goldberg A, Ronin I, Shoresh N, and Balaban NQ (2014). Optimization of lag time underlies antibiotic tolerance in evolved bacterial populations. Nature 513, 418–421. [PubMed: 25043002]

Ganesan M, Knier S, Younger JG, and Solomon MJ (2016). Associative and entanglement contributions to the solution rheology of a bacterial polysaccharide. Macromolecules 49, 8313–8321.

Gloag ES, German GK, Stoodley P, and Wozniak DJ (2018). Viscoelastic properties of *Pseudomonas aeruginosa* variant biofilms. Sci. Rep 8, 9691. [PubMed: 29946126]

Gordon VD, Davis-Fields M, Kovach K, and Rodesney Christopher.A. (2017). Biofilms and mechanics: a review of experimental techniques and findings. J. Phys. D 50, 223002.

Hall-Stoodley L, Costerton JW, and Stoodley P (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nat. Rev. Microbiol 2, 95–108. [PubMed: 15040259]

Harrison J,J, Wade W,D, Akierman S, Vacchi-Suzzi C, Stremick CA, Turner R,J, and Ceri H (2009). The chromosomal toxin gene yafQ is a determinant of multidrug tolerance for Escherichia coli growing in a biofilm. Antimicrob. Agents Chemother 53, 2253–2258. [PubMed: 19307375]

Jennings LK, Storek KM, Ledvina HE, Coulon C, Marmont LS, Sadovskaya I, Secor PR, Tseng BS, Scian M, Filloux A, et al. (2015). Pel is a cationic exopolysaccharide that cross-links extracellular DNA in the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 112, 11353–11358. [PubMed: 26311845]

Kaplan JB (2010). Biofilm Dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. J. Dent. Res 89, 205–218. [PubMed: 20139339]

Kovach K, Davis-Fields M, Irie Y, Jain K, Doorwar S, Vuong K, Dhamani N, Mohanty K, Touhami A, and Gordon VD (2017). Evolutionary adaptations of biofilms infecting cystic fibrosis lungs promote mechanical toughness by adjusting polysaccharide production. NPJ Biofilms Microbiomes 3, 1. [PubMed: 28649402]

Levin-Reisman I, Ronin I, Gefen O, Braniss I, Shoresh N, and Balaban NQ (2017). Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance. Science 355, 826–830. [PubMed: 28183996]

Lewis K (2005). Persister cells and the riddle of biofilm survival. Biochemistry (Mosc) 70, 267–274. [PubMed: 15807669]

Lewis K (2010). Persister cells and the paradox of chronic infections. Microbe 5, 429–437.

Marques CNH, Morozov A, Planzos P, and Zelaya HM (2014). The fatty acid signaling molecule *cis*-2-decenoic acid increases metabolic activity and reverts persister cells to an antimicrobial-susceptible state. Appl. Environ. Microbiol 80, 6976–6991. [PubMed: 25192989]

McDougald D, Rice SA, Barraud N, Steinberg PD, and Kjelleberg S (2012). Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. Nat. Rev. Microbiol 10, 39–50.

Moyed HS, and Bertrand KP (1983). hipA, a newly recognized gene of *Escherichia coli* K-12 that affects frequency of persistence after inhibition of murein synthesis. J. Bacteriol 155, 768. [PubMed: 6348026]

Nguyen D, Joshi-Datar A, Lepine F, Bauerle E, Olakanmi O, Beer K, McKay G, Siehnel R, Schafhauser J, Wang Y, et al. (2011). Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria. Science 334, 982–986. [PubMed: 22096200]

Otto M (2009). Staphylococcus epidermidis — the “accidental” pathogen. Nat. Rev. Microbiol 7, 555–567. [PubMed: 19609257]

Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript Author Manuscript

Rotem E, Loinger A, Ronin I, Levin-Reisman I, Gabay C, Shoresh N, Biham O, and Balaban NQ (2010). Regulation of phenotypic variability by a threshold-based mechanism underlies bacterial persistence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107, 12541–12546. [PubMed: 20616060]

Schumacher MA, Balani P, Min J, Chinnam NB, Hansen S, Vulić M, Lewis K, and Brennan RG (2015). HipBA–promoter structures reveal the basis of heritable multidrug tolerance. Nature 524, 59. [PubMed: 26222023]

Spoering AL, and Lewis K (2001). Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. J. Bacteriol 183, 6746–6751. [PubMed: 11698361]

Stewart EJ, Satorius AE, Younger JG, and Solomon MJ (2013). Role of environmental and antibiotic stress on *Staphylococcus epidermidis* biofilm microstructure. Langmuir 29, 7017–7024. [PubMed: 23688391]

Stewart EJ, Ganesan M, Younger JG, and Solomon MJ (2015). Artificial biofilms establish the role of matrix interactions in staphylococcal biofilm assembly and disassembly. Sci. Rep 5, 13081. [PubMed: 26272750]

Teschler JK, Zamorano-Sanchez D, Utada AS, Warner CJA, Wong GCL, Linington RG, and Yildiz FH (2015). Living in the matrix: assembly and control of *Vibrio cholerae* biofilms. Nat. Rev. Microbiol 13, 255–268. [PubMed: 25895940]

Walters MC, Roe F, Bugnicourt A, Franklin MJ, and Stewart PS (2003). Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. Antimicrob. Agents Chemother 47, 317–323. [PubMed: 12499208]

Waters EM, Rowe SE, O'Gara JP, and Conlon BP (2016). Convergence of *Staphylococcus aureus* persister and biofilm research: can biofilms be defined as communities of adherent persister cells? PLOS Pathog. 12, e1006012. [PubMed: 28033390]

Yan J, Sharo AG, Stone HA, Wingreen NS, and Bassler BL (2016). *Vibrio cholerae* biofilm growth program and architecture revealed by single-cell live imaging. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 113, E5337–E5343. [PubMed: 27555592]

Yan J, Moreau A, Khodaparast S, Perazzo A, Feng J, Fei C, Mao S, Mukherjee S, Košmrlj A, Wingreen NS, et al. (2018). Bacterial biofilm material properties enable removal and transfer by capillary peeling. Adv. Mater 30, 1804153.

Zrelli K, Galy O, Latour-Lambert P, Kirwan L, Ghigo JM, Beloin C, and Henry N (2013). Bacterial biofilm mechanical properties persist upon antibiotic treatment and survive cell death. New J. Phys 15, 125026.

Réaliser une figure : outil biorender

Les outils pour réaliser des figures

Sur ce TD, vous allez travailler sur un nouvel outil graphique **Biorender** qui a pour intérêt de proposer des dessins d'outils ou de structures biologiques à utiliser et combiner. Cet outil n'est pas un outil de dessin vectoriel et donc ne permet de garder la qualité du rendu si vous utilisez la figure pour l'agrandir. Il est donc pertinent d'utiliser chaque outil pour son utilisation :

- **Biorender**, spécialisé en biologie permet d'avoir des dessins esthétiques pré-réalisés
- **Inkscape/ adobe illustrator** : Dessin vectoriel. Vous avez intérêt à insérer les photos / images dans inkscape pour les agencer ensuite. Le texte ajouté sur Inkscape supportera mieux l'agrandissement. Cela est particulièrement utile pour les posters notamment.
- **GIMP/adoobe photoshop** : Travailler les contrastes de photo ou leur cadrage.
- **Tableurs** : permettent de réaliser des graphiques. Souvent les graphiques des articles sont à un format peu esthétique ou contiennent plus de données que ce que vous voulez exploiter. Vous pouvez utiliser le logiciel xyscan (TD2 - Modèles en SV) pour extraire les données et ensuite refaire le graphique.

La figure à réaliser

Le schéma graphique d'un article scientifique a pour objectif d'attirer l'attention sur le sujet et doit résumer les messages principaux du texte.

Objectifs de la séance

- Synthétiser les informations scientifiques des fiches bibliographiques dans une figure
- Créer un schéma professionnel pour présentation des travaux scientifiques

A. Avant la séance :

1) Avoir préparé, en TD Résolution de la SAE 31, la bibliographie relative à la thématique individuelle
2) Créer un compte BioRender.
3) Examiner attentivement deux documents de support pour la construction d'une représentation graphique.
   a) Support 1 : Un infographique crée par BioRender expliquant comment résumer un texte de manière graphique. Remarquez la disposition à utiliser, les couleurs, les flèches et les légendes.
   b) Support 2 : Les consignes pour créer un résumé graphique par l'éditeur scientifique « Cell », avec des exemples critiqués de quatre « graphical abstract ».

B. Pendant la séance :

1) Discussion d'un abstract et de sa représentation graphique. (20min)
   a) Commencer par examiner la représentation graphique.

b) Rédiger une phrase décrivant votre perception du schéma observé.

c) Lire ensuite le résumé et comparer votre description avec le résumé

d) Répondre aux questions : Recevez-vous le même message en lisant le résumée et en examinant la figure ? Quels éléments pourraient être améliorés dans la représentation graphique ?

2) Réalisation d'un brouillon de votre figure. (20min)

a) Commencer par rassembler les fiches bibliographiques réalisées sur la SAE 31 et décider si la figure à réaliser regroupera des méthodologies expérimentales (i.e. démontrer les instruments et les conditions de manipulation suite à une hypothèse) ou des conclusions scientifiques (i.e. présenter une figure de revue bibliographique qui regroupe des théories).

b) Définir 1 ou 2 phrases qui résument vos fiches bibliographiques ainsi que le texte construit lors de la SAE31.

c) Consulter les enseignantes pour vérifier les définitions qui doivent apparaitre sur le schéma.

d) Esquisser sur papier le contexte de ce que vous souhaitez représenter et les éléments clés à dessiner. Déterminer les formes, flèches et étiquettes pour clarifier les schémas. Sélectionner les couleurs et polices adaptés.

3) Seulement après avoir un brouillon sur papier, investiguer BioRender et les modèles à disposition pour dessiner votre schéma (50 mn).

a) Se rappeler des éléments indispensables pour son message.

b) Esquisser l'ordre de présentation et la numérotation des événements si c'est le cas.

C. Après la séance :

1) Terminer la figure

2) Remplir le carnet de Bord

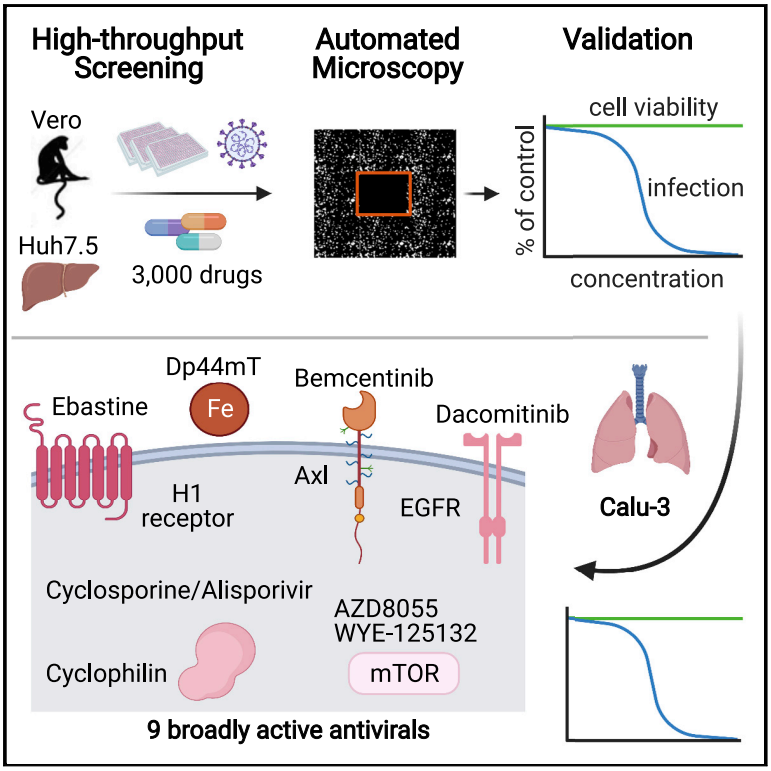
Exemple 1

Resource

Cell Reports

Drug repurposing screens reveal cell-type-specific entry pathways and FDA-approved drugs active against SARS-Cov-2

Graphical abstract



Highlights

- 3,000 compounds screened in two cell types against SARS-CoV-2
- Entry pathways are distinct in hepatocyte Huh7.5 and respiratory Calu-3 cells
- Only nine compounds that are active in Huh7.5 cells are active in Calu-3 cells
- Cyclosporin and cyclophilin inhibitors block SARS-CoV-2 infection in diverse cells

Authors

Mark Dittmar, Jae Seung Lee, Kanupriya Whig, ..., Holly Ramage, David C. Schultz, Sara Cherry

Correspondence

holly.ramage@jefferson.edu (H.R.), dschultz@upenn.edu (D.C.S.), cherrys@pennmedicine.upenn.edu (S.C.)

In brief

There is an urgent need for antivirals to treat the newly emerged SARS-CoV-2. Dittmar et al. find nine host-directed drugs are antiviral in respiratory cells, seven of which have been given to humans, and three are FDA approved. We show host targets that have the potential for rapid clinical implementation.

Dittmar et al., 2021, Cell Reports *35*, 108959
April 6, 2021 © 2021 The Authors.
https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108959

CellPress

Cell Reports

CellPress
OPEN ACCESS

Resource

Drug repurposing screens reveal cell-type-specific entry pathways and FDA-approved drugs active against SARS-Cov-2

Mark Dittmar,[1,7] Jae Seung Lee,[1,7] Kanupriya Whig,[2,7] Elisha Segrist,[1] Minghua Li,[1] Brinda Kamalia,[2] Lauren Castellana,[1] Kasirajan Ayyanathan,[1] Fabian L. Cardenas-Diaz,[3] Edward E. Morrisey,[3] Rachel Truitt,[3] Wenli Yang,[3] Kellie Jurado,[4] Kirandeep Samby,[5] Holly Ramage,[6,*] David C. Schultz,[2,*] and Sara Cherry[1,2,4,8,*]
[1]Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA
[2]Department of Biochemistry and Biophysics, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA
[3]Department of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA
[4]Department of Microbiology, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA
[5]Medicines for Malaria Venture, Geneva, Switzerland
[6]Department of Microbiology, Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA, USA
[7]These authors contributed equally
[8]Lead contact
*Correspondence: holly.ramage@jefferson.edu (H.R.), dschultz@upenn.edu (D.C.S.), cherrys@pennmedicine.upenn.edu (S.C.)
https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108959

SUMMARY

There is an urgent need for antivirals to treat the newly emerged severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). To identify new candidates, we screen a repurposing library of ~3,000 drugs. Screening in Vero cells finds few antivirals, while screening in human Huh7.5 cells validates 23 diverse antiviral drugs. Extending our studies to lung epithelial cells, we find that there are major differences in drug sensitivity and entry pathways used by SARS-CoV-2 in these cells. Entry in lung epithelial Calu-3 cells is pH independent and requires TMPRSS2, while entry in Vero and Huh7.5 cells requires low pH and triggering by acid-dependent endosomal proteases. Moreover, we find nine drugs are antiviral in respiratory cells, seven of which have been used in humans, and three are US Food and Drug Administration (FDA) approved, including cyclosporine. We find that the antiviral activity of cyclosporine is targeting Cyclophilin rather than calcineurin, revealing essential host targets that have the potential for rapid clinical implementation.

INTRODUCTION

Coronaviruses represent a large group of medically relevant viruses that were historically associated with the common cold. However, in recent years, members of the coronavirus family have emerged from animal reservoirs into humans and have caused novel diseases (Cui et al., 2019). First, severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) emerged in China in 2003, followed by Middle East respiratory syndrome (MERS)-CoV in 2012 (de Wit et al., 2016; Weiss and Navas-Martin, 2005). Although SARS was in the end eradicated, MERS continues to cause infections in the Middle East. Beginning in December 2019 and continuing into January 2020, it became clear that a new respiratory virus was spreading in Wuhan, China. Rapid sequencing efforts revealed a coronavirus closely related to SARS, which was named SARS-CoV-2 (Wu et al., 2020). Unfortunately, this virus is highly infectious and has spread rapidly, creating a worldwide pandemic.

Identification of broadly acting SARS-CoV-2 antivirals is essential to clinically address SARS-CoV-2 infections. A potential route to candidate antivirals is through the deployment of drugs that show activity against related viruses. Previous studies found that the antiviral drug remdesivir, which was developed against the RNA-dependent RNA polymerase of Ebola virus, was also active against SARS-CoV-2 *in vitro*, with promising results in clinical trials (Beigel et al., 2020; Blanco-Melo et al., 2020; Warren et al., 2016). Chloroquine and its derivatives, including hydroxychloroquine, are approved for use in malaria, and many *in vitro* studies have found that these drugs are also active against coronaviruses, including SARS-CoV-2 (Liu et al., 2020; Wang et al., 2020). This led to early adoption of these agents to treat COVID-19 (the disease caused by SARS-CoV-2 infection); however, little efficacy of these agents has been demonstrated in subsequent clinical trials (Boulware et al., 2020). It remains unclear why these agents have not been more active in humans.

There are currently more than 3,000 US Food and Drug Administration (FDA)-approved drugs, as well as many others that have been tested in humans. We created an in-house library of 3,059 drugs, including ~1,000 FDA-approved drugs and ~2,100 drug-like molecules against defined molecular targets with validated pharmacological activity. In addition, we purchased drugs with reported anti-SARS-CoV-2 activity (e.g., remdesivir, lopinavir, azithromycin, etc.). Viruses encode unique proteins essential

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Exemple 2

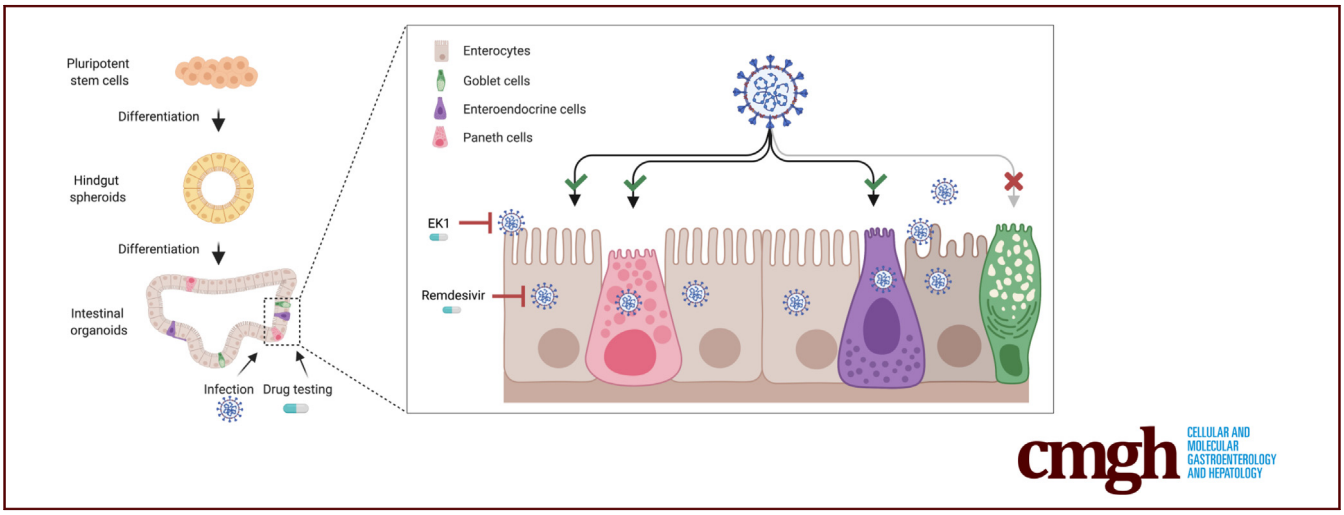
cmgh
CELLULAR AND MOLECULAR GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY

ORIGINAL RESEARCH

Drug Inhibition of SARS-CoV-2 Replication in Human Pluripotent Stem Cell–Derived Intestinal Organoids

Jana Krüger,[1,*] Rüdiger Groß,[2,*] Carina Conzelmann,[2,*] Janis A. Müller,[2,*] Lennart Koepke,[2] Konstantin M. J. Sparrer,[2] Tatjana Weil,[2] Desiree Schütz,[2] Thomas Seufferlein,[1] Thomas F. E. Barth,[3] Steffen Stenger,[4] Sandra Heller,[1,§] Jan Münch,[2,§] and Alexander Kleger[1,§]

[1]Department of Internal Medicine I, Ulm University Hospital, Ulm, Germany; [2]Institute of Molecular Virology, Ulm University Medical Center, Ulm, Germany; [3]Department of Pathology, Ulm University Hospital, Ulm, Germany; and [4]Institute for Microbiology and Hygiene, Ulm University Medical Center, Ulm, Germany



SUMMARY

Human pluripotent stem cell–derived intestinal organoids serve as an indefinite resource for organ-specific drug testing. SARS-CoV-2 infected and replicated within different cell types of the organoids, which was effectively inhibited by remdesivir and EK1 but not by famotidine.

BACKGROUND AND AIMS: The COVID-19 pandemic has spread worldwide and poses a severe health risk. While most patients present mild symptoms, descending pneumonia can lead to severe respiratory insufficiency. Up to 50% of patients show gastrointestinal symptoms like diarrhea or nausea, intriguingly associating with prolonged symptoms and increased severity. Thus, models to understand and validate drug efficiency in the gut of COVID-19 patients are of urgent need.

METHODS: Human intestinal organoids derived from pluripotent stem cells (PSC-HIOs) have led, due to their complexity in mimicking human intestinal architecture, to an unprecedented number of successful disease models including gastrointestinal infections. Here, we employed PSC-HIOs to dissect SARS-CoV-2 pathogenesis and its inhibition by remdesivir, one of the leading drugs investigated for treatment of COVID-19.

RESULTS: Immunostaining for viral entry receptor ACE2 and SARS-CoV-2 spike protein priming protease TMPRSS2 showed broad expression in the gastrointestinal tract with highest levels in the intestine, the latter faithfully recapitulated by PSC-HIOs. Organoids could be readily infected with SARS-CoV-2 followed by viral spread across entire PSC-HIOs, subsequently leading to organoid deterioration. However, SARS-CoV-2 spared goblet cells lacking ACE2 expression. Importantly, we challenged PSC-HIOs for drug testing capacity. Specifically, remdesivir effectively inhibited SARS-CoV-2 infection dose-dependently at low micromolar concentration and rescued PSC-HIO morphology.

CONCLUSIONS: Thus, PSC-HIOs are a valuable tool to study SARS-CoV-2 infection and to identify and validate drugs especially with potential action in the gut. *(Cell Mol Gastroenterol Hepatol 2021;11:935–948; https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2020.11.003)*

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; Intestinal Organoids; Remdesivir; Famotidine.

Exemple 3

Chemosphere 263 (2021) 127780

Contents lists available at ScienceDirect

Chemosphere

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere

Season-dependent effects of ZnO nanoparticles and elevated temperature on bioenergetics of the blue mussel *Mytilus edulis*

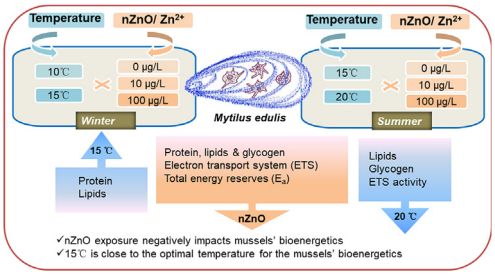
Fangli Wu [a], Eugene P. Sokolov [b], Olaf Dellwig [c], Inna M. Sokolova [a, d, *]

[a] Department of Marine Biology, Institute for Biological Sciences, University of Rostock, Rostock, Germany
[b] Leibniz Institute for Baltic Sea Research, Leibniz ScienceCampus Phosphorus Research, Rostock, Warnemünde, Germany
[c] Department of Marine Geology, Leibniz Institute for Baltic Sea Research Warnemünde, Rostock, Germany
[d] Department of Maritime Systems, Interdisciplinary Faculty, University of Rostock, Rostock, Germany

HIGHLIGHTS

- Combined effects of temperature and nZnO on mussels' bioenergetics were studied.
- In summer and winter, nZnO exposure depleted glycogen stores of the mussels.
- In summer, nZnO exposure suppressed mitochondrial activity and lipid levels.
- Warming (+5 °C) increased mussels' energy reserves in winter but not in summer.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:
Received 27 April 2020
Received in revised form
17 July 2020
Accepted 18 July 2020
Available online 12 August 2020

Handling Editor: Jim Lazorchak

Keywords:
Warming
nZnO
Mussel
Energy reserves
Mitochondria
Electron transport activity
Oxidative phosphorylation
Proton leak
Lipid
Carbohydrate

ABSTRACT

Input of ZnO nanoparticles (nZnO) from multiple sources have raised concerns about the potential toxic effects on estuarine and coastal organisms. The toxicity of nZnO and its interaction with common abiotic stressors (such as elevated temperature) are not well understood in these organisms. Here, we examined the bioenergetics responses of the blue mussel *Mytilus edulis* exposed for 21 days to different concentrations of nZnO or dissolved zinc (Zn^{2+}) **(0, 10, 100 μg l^{-1})** and two temperatures (ambient and 5 °C warmer) in winter and summer. Exposure to nZnO had little effect on the protein and lipid levels, but led to a significant depletion of carbohydrates and a decrease in the electron transport system (ETS) activity. Qualitatively similar but weaker effects were found for dissolved Zn. In winter mussels, elevated temperature (15 °C) led to elevated protein and lipid levels increasing the total energy content of the tissues. In contrast, elevated temperature (20 °C) resulted in a decrease in the lipid and carbohydrate levels and suppressed ETS in summer mussels. These data indicate that moderate warming in winter (but not in summer) might partially compensate for the bioenergetics stress caused by nZnO toxicity in *M. edulis* from temperate areas such as the Baltic Sea.

© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

With the global rise in nanotechnology, manufactured

* Corresponding author. Department of Marine Biology, Institute for Biological Sciences, University of Rostock, Rostock, Germany.
E-mail address: inna.sokolova@uni-rostock.de (I.M. Sokolova).

https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127780
0045-6535/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Étape 3 : Mettez en page !

Objectif

L'objectif de cette partie est de vous faire travailler sur la mise en page de la revue. Différents supports LateX ont été proposés pour vous donner une base de travail :

- Une page de Présentation
- Un modèle de rédaction pour chaque groupe
- Un modèle de page intermédiaire "chapitre"
- Un modèle de page de dos

Chaque équipe devra proposer son propre modèle de mise en page et nous voteront dans chaque parcours pour un modèle. Dans chaque équipe, chaque étudiant prendra en charge une partie du travail qu'il identifiera dans le carnet de bord. La cohérence ici est essentielle pour avoir une jolie mise en page.

Amusez vous ! Créez !

TD 3 Mise en page

Ce TD a pour objectif de travailler avec vous sur les templates fourni par l'équipe enseignante

	Étudiants
Avant la séance	❏ Regardez les templates LateX ❏ Repérez les différentes sous-parties de façon à savoir où est codé quoi ❏ réfléchissez à un rendu final en équipe avant de venir ❏ Lire/Remplir le carnet de bord
Pendant la séance	❏ Travaillez en groupe sur la maquette de votre revue (5mn) ❏ Séparez vous le travail de façon à donner vie à votre maquette (5mn) ❏ Commencez à réaliser votre maquette en modifiant le code des templates ❏ Appuyez vous sur l'enseignant pour vous aider.
Après la séance	❏ Terminez le plus possible votre modèle ❏ Remplir le carnet de bord

SAE 33 : TD 3 - Mettre en page sa revue

Objectifs de la séance

- Résoudre vos beugs sous Latex
- Travailler un format de revue finale à partir du format proposé

A. Avant la séance :

1) Sur l'ensemble de vos fichiers LateX, notez tout ce que vous n'arrivez pas à compiler/afficher/mettre en page
2) Télécharger les fichier du modèle de revue
3) Insérer vos titre / figures / références : tout ce que vous avez dans le formation de revue proposé
4) Analysez l'architecture du fichier avant de comprendre comment le format est codé. Vous avez des outils sur les packages utilisez dans la partie méthodologie sur moodle.
5) En équipe : Préparez les modèles de page de couverture et de page de fin (en inkscape) ainsi qu'en latex les pages de chapitre.

B. Pendant la séance :

1) Quand l'enseignant est disponible, faite lui part de vos beugs pour corriger.
2) Terminez un rendu de revue avec votre équipe pour la page de garde, la dernière de couverture, des chapitres intermédiaires et votre revue de groupe.
3) Essayez de formaliser ce rendu en LateX
4) réfléchissez à un nom pour le numéro ainsi qu'une organisation en chapitres
5) votez pour la mise en page préférées ; titre et chapitres.

C. Après la séance la séance :

Terminez la mise de la revue et remplissez le carnet de bord. Le groupe votera pour la meilleur mise en page qui sera appliquée à tous.

Nommez correctement vos fichiers :

- Fichier latex revue par équipe : RevueBGB1.tex, RevueSEGE1.tex, RevueBGB2.tex ...
- Fichier de bibliographie par groupe : BibBGB1.bib, BibBGB2.bib, en pensant bien à mettre un keyword par personne (keyword = NOMDEFAMILLE,) ainsi que pour introduction et conclusion (keyword = NOMDEFAMILLE, IntroBGB1,).
- Fichiers de figure : BGB1-NomDeFamille-1.png par exemple.
- vos propositions de page de couverture, page de fin, pages de chapitre. BGB1-couverture.pdf par exemple.
- déposez les sur moodle