

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMSEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de  
l'Univers

Département d'Agronomie



# MÉMOIRE

Présenté par

**GHRAIR Abir Ikram**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Agronomie

Option : Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité

## Thème

**Effet des conditions environnementales sur la formation  
de biofilm par *Escherichia coli***

Soutenu le 23/06/2024, devant le jury composé de :

Président	BARKA Mohammed Salih	Professeur	Université de Tlemcen
Promotrice	CHERIF ANNTAR Asma	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	BENYOUB Nour Eddine	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2023/2024

## ***Remerciements***

*Avant tout, je remercie le Bon Dieu le Tout Puissant, de m'avoir donné la force, la volonté et la patience de pouvoir mener à bien ce modeste travail et l'achever malgré les diverses difficultés des circonstances vécues.*

*En seconde lieu, je tiens à remercier ma chère promotrice Mme CHERIF ANNTAR Asmaa maitre de conférences classe B à l'université ABOU BAKR BELKAID Tlemcen, pour ses précieux conseils, sa confiance et son aide durant toute la période du travail.*

*Mes vifs remerciements pour les membres du jury à commencer par Mr BARKA Mohamed Salih Professeur à l'université ABOU BAKR BELKAID Tlemcen, qui m'a fait l'honneur de présider mon jury.*

*A Mr BENYOUB Nour Eddine maitre de conférences classe B à l'université ABOU BAKR BELKAID Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail*

*Mes profonds remerciements vont également à tous les enseignants qui m'ont donné les bases de la recherche pendant mon parcours universitaire, à toutes les personnes qui m'ont aidé et contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*

*Enfin, je remercie l'ensemble du personnel du laboratoire de l'Institut des Sciences et Techniques Appliquées (ISTA), et du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) pour leur disponibilité et leur aide dans la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail, A mes chers parents, pour leur soutien, les sacrifices, et tous les efforts consentis pour mon éducation et ma formation. Je tiens à vous témoigner ma reconnaissance et mon profond amour. Que dieu, le tout puissant, vous préserve et vous accorde santé, longue vie et bonheur.*

*A ma chère mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous ses sacrifices et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*A mon cher père, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, et ma considération pour les sacrifices que tu as consentis pour mon instruction et mon bien être.*

*A mon cher frère Mehdi je te souhaite beaucoup de réussite au témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance.*

*A toute personne m'ayant consacré un moment pour m'aider, me conseiller et m'encourager.*

## Résumé

Le biofilm est une association de micro-organismes liés de manière irréversible à une surface, contenue dans une matrice de substance polymère extracellulaire, ce qui constitue un formidable défi pour les industries agroalimentaires. Cette étude se focalise sur l'impact de certains facteurs environnementaux incluant la source de carbone, la température, le type de surface et le temps de contact sur la formation de biofilms dans l'industrie laitière. L'objectif était d'évaluer la capacité de trois souches d'*Escherichia coli* isolées des lignes de post-pasteurisation du lait cru à former des biofilms en présence de différents sucres (lactose, glucose et galactose). La méthodologie comprenait l'incubation des souches avec différentes concentrations de sucres (0.5, 1, 1.5, 2 et 2.5%) et l'évaluation de la formation de biofilms à des intervalles de temps (24, 48 et 72h) et température spécifiques (25, 30 et 40°C) et selon le type de surfaces (téflon). Les résultats montrent que les sucres ont des effets variables sur la formation de biofilms, en fonction de la souche, la température et de la durée d'incubation. Le galactose a favorisé une formation initiale élevée de biofilms avec une valeur de 1.74nm, suivi par le lactose 1.53nm et le glucose 1.08nm. En conclusion, cette étude souligne l'importance de prendre en compte les sources de carbone dans l'industrie laitière, car elles influencent la formation de biofilms. Comprendre ces interactions permettra de développer des stratégies de contrôle pour maintenir la qualité et la sécurité alimentaire dans cette industrie.

**Mots clés :** Biofilm, *Escherichia coli*, téflon, l'industrie laitière.

## **Abstract**

Biofilm is an association of microorganisms irreversibly attached to a surface, contained within a matrix of extracellular polymer substance, which poses a formidable challenge for the food industry. This study focuses on the impact of certain environmental factors including carbon source, temperature, surface type, and contact time on biofilm formation in the dairy industry. The objective was to evaluate the ability of three strains of *Escherichia coli* isolated from post-pasteurization lines of raw milk to form biofilms in the presence of different sugars (lactose, glucose, and galactose). The methodology included incubating the strains with different sugar concentrations (0.5, 1, 1.5, 2, and 2.5%) and evaluating biofilm formation at specific time intervals (24, 48, and 72h) and temperatures (25, 30, and 40°C) and on specific surfaces (Teflon). The results show that sugars have varying effects on biofilm formation, depending on the strain, temperature, and incubation duration. Galactose promoted high initial biofilm formation with a value of 1.74nm, followed by lactose at 1.53nm and glucose at 1.08nm. In conclusion, this study highlights the importance of considering carbon sources in the dairy industry, as they influence biofilm formation. Understanding these interactions will help develop control strategies to maintain food quality and safety in this industry.

**Keywords:** Biofilm, *Escherichia coli*, Teflon, dairy industry.

## ملخص

البايوفيلم هو ارتباط للكائنات الدقيقة المرتبطة بشكل لا رجعة فيه بسطح ما، محتواة في مصفوفة من المواد البوليمرية خارج الخلية، مما يشكل تحديًا كبيرًا لصناعة الأغذية. تركز هذه الدراسة على تأثير بعض العوامل البيئية بما في ذلك مصدر الكربون، ودرجة الحرارة، ونوع السطح، ووقت التلامس على تكوين البايوفيلم في صناعة الألبان. كان الهدف هو تقييم قدرة ثلاث سلالات من الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) المعزولة من خطوط ما بعد البسترة للحليب الخام على تكوين البايوفيلم في وجود سكريات مختلفة (اللاكتوز، الجلوكوز والجالاكتوز). شملت المنهجية تحضين السلالات مع تركيزات مختلفة من السكريات (0.5، 1، 1.5، 2 و 2.5%) وتقييم تكوين البايوفيلم في فترات زمنية محددة (24، 48 و 72 ساعة) ودرجات حرارة (25، 30 و 40 درجة مئوية) وعلى أسطح محددة (التفلون). أظهرت النتائج أن للسكريات تأثيرات متباينة على تكوين البايوفيلم، اعتمادًا على السلالة، ودرجة الحرارة، ومدة التحضين. عزز الجالاكتوز تكوينًا أوليًا عاليًا للبايوفيلم بقيمة 1.74 نانومتر، يليه اللاكتوز 1.53 نانومتر والجلوكوز 1.08 نانومتر. في الختام، تسلط هذه الدراسة الضوء على أهمية مراعاة مصادر الكربون في صناعة الألبان، حيث تؤثر على تكوين البايوفيلم. سيساعد فهم هذه التفاعلات في تطوير استراتيجيات التحكم للحفاظ على جودة وسلامة الأغذية في هذه الصناعة.

**الكلمات المفتاحية:** البايوفيلم، الإشريكية القولونية، التفلون، صناعة الألبان.

# *Table des matières*

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Table des matières</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>

## **Chapitre I : Généralités sur les biofilms**

I.1	Définition .....	4
I.2	Historique.....	4
I.3	Caractéristiques des biofilms .....	5
I.4	Les étapes de formation d'un biofilm :.....	5
I.4.1	Formation d'un film conditionnant.....	6
I.4.2	Adhésion .....	6
I.4.2.1	Adhésion réversible .....	7
I.4.2.2	Adhésion irréversible .....	7
I.4.3	Formation de micro-colonies.....	7
I.4.4	Maturation .....	8
I.4.4.1	La maturation-1 .....	8
I.4.4.2	La maturation-2 .....	8
I.4.5	Dispersion du biofilm .....	8
I.5	Structure du biofilm.....	9
I.6	Composition du biofilm.....	10
I.6.1	Polysaccharides .....	11
I.6.2	Protéines extracellulaires .....	12
I.6.3	ADN extracellulaire .....	12
I.6.4	Eau .....	12
I.6.5	Microorganismes .....	12
I.7	Rôle du biofilm .....	13
I.8	Les biofilms en industries laitières :.....	14

## **Chapitre II : Facteurs influençant la formation du biofilm**

II.1	Caractéristiques de la surface.....	17
II.1.1	Rugosité de la surface.....	17
II.1.2	Propriétés physico-chimiques de la surface.....	18
II.1.3	Présence de films protéiques sur la surface .....	18
II.2	Caractéristiques du milieu .....	18
II.2.1	La température. ....	18
II.2.2	Le pH.....	19

II.2.3	Concentrations en nutriments .....	19
II.3	Propriétés des cellules .....	19
II.4	Interaction des particules .....	19

### **Chapitre III : Généralités sur Escherichia coli**

III.1	Définition et habitat.....	22
III.2	Historique de découvert.....	22
III.3	Pathogénicité et plasticité du génome .....	23
III.4	Caractères bactériologiques .....	23
III.4.1	Caractères morphologiques .....	23
III.4.2	Caractères cultureux .....	24
III.4.3	Caractères biochimiques .....	24
III.4.4	Caractères antigéniques .....	25
III.5	Pouvoir pathogène.....	25
III.6	Facteurs environnementaux influençant la croissance et survie d'Escherichia coli ...	26
III.6.1	La température .....	26
III.6.2	Disponibilité de l'eau.....	26
III.6.3	Disponibilité des nutriments .....	26
III.6.4	Le pH.....	26
III.7	Biofilm d'Escherichia coli.....	27
III.7.1	Biofilm d'E.coli dans le domaine clinique .....	27
III.7.2	Biofilm d'E.coli Dans le domaine agroalimentaire.....	27

### **Matériel et méthodes**

1.	Origine des souches.....	30
2.	Revivification des souches.....	30
3.	Observation microscopique.....	30
4.	Conservation des souches .....	31
5.	Effet de la source de carbone sur la formation de biofilm par Escherichia coli ....	31
5.1	Préparation de la suspension bactérienne .....	31
5.2	Formation de biofilm par E-coli.....	31
5.2.1	Protocole : .....	31
5.2.2	Quantification des biofilms formés .....	31
6.	L'évaluation de la capacité de formation de biofilm par Escherichia coli sur téflon .....	32
6.1.	Préparation de la suspension bactérienne : .....	32
6.2.	Formation de biofilm : .....	32
6.3.	Dénombrement des bactéries adhérees .....	32

### **Résultats et discussion**

1.	Observation microscopique des souches d'Escherichia coli.....	34
2.	Effet de la source de carbone sur la formation de biofilm par Escherichia coli ....	34
2.1	Effet des sucres sur la souche E.coli lamaabe4-73.....	34
2.2	Effet des sucres sur la souche E.coli lamaabe4-82.....	36

2.3 Effet des sucres sur la souche de référence E.coli ATCC 25922 .....	38
3. Evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souches E.coli sur le téflon mettre le nom complet tel que je l'ai mis dans la partie méthodologie .....	40
4. Discussion .....	41
<b>Conclusion .....</b>	<b>47</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>50</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> Etapes de formation de biofilm microbien (Zhou et al., 2022).....	9
<b>Figure 2:</b> Composants de la matrice EPS du biofilm (Dwivedi et Sehgal, 2022).....	13
<b>Figure 3:</b> Principaux facteurs affectant la formation de biofilm (Speranza et Corbo, 2017). .	17
<b>Figure 4:</b> E. Coli sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b) .....	23
<b>Figure 5:</b> Aspect d'E. coli sur gélose nutritive.....	24
<b>Figure 6:</b> Effet de différentes sources de carbone sur la formation de biofilm par la souche E.coli lamaabe4-73 ; (A) : 25°C, (B) : 37°C et (C) : 40°C .....	35
<b>Figure 7:</b> Effet de différentes sources de carbone sur la formation de biofilm par la souche E.coli lamaabe4-82 ; (A) : 25°C, (B) : 37°C et (C) : 40°C .....	37
<b>Figure 8:</b> Effet de différentes sources de carbone sur la formation de biofilm par la souche E.coli ATCC 25922 ; (A) : 25°C, (B) : 37°C et (C) : 40°C .....	39
<b>Figure 9:</b> Evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souches d'E.coli sur le téflon.....	41

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1:</b> Composition du biofilm (Rather et al., 2021).....	11
<b>Tableau 2:</b> Les importants facteurs intervenant dans la fixation des cellules microbiennes et la formation de biofilm (Donlan 2002).....	20
<b>Tableau 3:</b> Caractères biochimiques d'E.coli(Bedrane et al., 2020) .....	25

## *Liste des abréviations*

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ADNe** : Acide DésoxyriboNucléique extracellulaire

**ADNr** : Acide DésoxyriboNucléique Ribosomique

**ARDRA** : Analyse des fragments de Restriction de l'ADN Ribosomique Amplifié

**ARN** : Acide RiboNucleique

**BHIB** : Bouillon Coeur- Cerveille Infusion

**BIF** : bactérie indicatrice fécale

**CV** : Cristal Violet

**DAEC** : *E. coli* à adhésion diffuse

**DO** : Densité Optique

**EAEC** : *E. coli* entéroagrégatifs

**E-coli** : Escherichia coli

**EDS** : Eau Distillée stérile

**EHEC** : *E. coli* entérohémorragiques

**EIEC** : *E. coli* entéroinvasifs

**EPEC** : *E. coli* entéropathogènes

**EPS** : ExoPolySaccharides

**ExPEC** : *E. coli* pathogènes extra-intestinaux

**h** : Heures

**H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'Hydrogène

**HGT** : transfert horizontal de gènes

**InPEC** : *E. coli* pathogènes intestinaux

***K. pneumoniae*** : *Klebsiella pneumoniae*

**LDC** : Lysine DéCarboxylase

**mg/ml** : Milligramme par millilitre

**ml** : Millilitres

**NaCl** : Chlorure de sodium

**NEP** : Nettoyage En Place

**nm** : Nanomètre

**ONPG** : Ortho-Nitrophényl-β GalactoPyranoside

***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*

**PCA** : Plate Count Agar

**pH** : Potentiel d'Hydrogène

**pKa** : Protéine kinase A

**PTFE** : Polytétrafluoroéthylène

**RAPD-PCR** : Amplification aléatoire d'ADN Polymorphe- Réaction en Chaîne par Polymérase

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*

**TDA** : Tryptophane DésAminase

**UFC/ml** : Unites Formant Colonie par millilitre

**UPEC** : *E. coli* uropathogènes

**UV** : Ultra violet

**VP** : Vogues-Proskauer

---

---

# **Introduction**

---

---

## Introduction

---

Les biofilms bactériens sont généralement définis comme des communautés microbiennes fixes et enveloppées dans des substances polymères extracellulaires (EPS). Ils se caractérisent par l'adhésion irréversible des cellules microbiennes aux surfaces, aux substrats ou entre elles, et sont intégrés dans l'EPS.

Les biofilms augmentent la résistance des bactéries face à différents éléments, tels que les substances chimiques, la déshydratation et les variations de pH, et réduisent l'efficacité des désinfectants utilisés dans les procédés de nettoyage sur place, ce qui contribue à la pérennité des bactéries dans l'industrie alimentaire (Goetz *et al.*, 2022 ; Xu *et al.*, 2021 ; Zou et Liu, 2018).

La dégradation bactérienne est un enjeu majeur dans le secteur laitier, avec des répercussions à la fois économiques et sanitaires. Il est plus compliqué d'éliminer les bactéries présentes dans le biofilm que les cellules planctoniques vivantes. Les installations, les produits et le personnel sont ainsi continuellement contaminés par ces substances une fois qu'elles sont installées. On a prouvé que même en respectant les bonnes pratiques de fabrication en matière de nettoyage et d'assainissement, des microorganismes peuvent persister sur les surfaces des équipements (Geetha et Prasad, 2011).

La résistance aux antimicrobiens des bactéries Gram-négatives est devenue une préoccupation majeure dans le secteur laitier (Ababu *et al.*, 2020 ; Almeida *et al.*, 2020). *Escherichia coli* est une bactérie fécale commensale qui sert de marqueur pour surveiller la résistance aux antimicrobiens et peut également être une source potentielle de gènes de résistance (Garzon *et al.*, 2024). La consommation de produits laitiers contaminés peut transmettre ces bactéries à l'homme, ce qui leur permet de coloniser l'intestin et de transmettre leurs gènes de résistance aux antimicrobiens au microbiote intestinal (Lerminiaux et Cameron, 2019 ; Straley *et al.*, 2006 ; van den Bogaard et Stobberingh, 1999). Ces bactéries présentes dans le lait et les produits laitiers peuvent causer une perte de la qualité des produits et des pertes économiques considérables dans le secteur laitier (Tatini et Kauppi, 2002).

L'objectif de la présente étude est d'étudier l'impact de certains facteurs environnementaux incluant la source de carbone, la température, le type de surface et le temps de contact sur la formation de biofilm par *Escherichia coli*, isolée à partir des lignes de post-pasteurisation de production de lait cru.

Ce mémoire sera scindé en trois parties :

1. La première partie sera consacrée à une synthèse bibliographique englobant des généralités sur les biofilms et sur *E.coli* ainsi que les facteurs favorisant la formation du biofilm.

## Introduction

---

2. La deuxième partie présentera une description de la méthodologie envisagée.
3. La dernière partie comportera une présentation des résultats obtenus et leur discussion. Ce travail sera clôturé par une conclusion et des perspectives qui pourront ouvrir de nouveaux axes de recherches.

---

---

# **Chapitre I : Généralités sur les biofilms**

---

---

## I.1 Définition

Les biofilms ont été définis comme des agrégats de microorganismes où les cellules sont souvent incluses dans une matrice produite par elles-mêmes, constituée de substances polymériques extracellulaires (EPS), qui les maintiennent ensemble et/ou les attachent à une surface (Flemming *et al.*, 2016).

Le terme « agrégat » explique que la majorité des cellules des biofilms multicouches subissent un contact de cellule à cellule, que ce soit dans les biofilms attachés à la surface, où une seule couche est en contact direct avec le substrat, ou sous forme de flocons, qui sont des biofilms mobiles se formant en l'absence totale de substrat (Flemming *et al.*, 2016). Il peut être défini comme une communauté de micro-organismes attachés et intégrés dans une surface. Dans une matrice riche en polymères extracellulaires, ce mode de vie sessile est l'inverse du mode de vie planctonique, dans lequel les bactéries sont dispersées et se déplacent librement dans un liquide (Carrascosa *et al.*, 2021).

## I.2 Historique

En milieu océanique au début du 20<sup>ème</sup> siècle lors des travaux portant sur les problèmes de détérioration des coques des navires, la première découverte des biofilms a été faite (Angst, 1923 ; Henrici, 1933 ; Bagge *et al.*, 2001).

En 1933, Arthur Henric fait tremper des lames de microscopie en verre dans son aquarium et observe un dépôt de germes qui s'épaissit graduellement. Ces études préliminaires indiquent que les salissures qui touchent les bateaux sont des bactéries présentes dans l'eau et qui ne flottent pas en liberté mais vivent sur des surfaces submergées. L'existence de l'état sessile ainsi que l'état planctonique a été reconnue suite à la découverte faite par Zobell en 1943. Claude Zobell démontre que, dans une bouteille remplie de liquide, les bactéries colonisant les parois sont plus importantes que celles en suspension (Donlan, 2002).

Toutefois, à cette époque, les outils de recherche disponibles, notamment les méthodes traditionnelles de microscopie, ne permettaient pas d'observer les biofilms. Le terme « film » est utilisé en microbiologie marine pour décrire l'adhésion, l'agrégation et la multiplication de bactéries sur des surfaces, afin de différencier les bactéries sessiles de celles qui nagent librement. Le mot « biofilm » a été utilisé dans la microbiologie technique et environnementales dès 1935 (Høiby, 2017).

Les recherches de Costerton sur la croissance des biofilms en microbiologie médicale ont été publiées en 1985. Il a démontré que les bactéries qui se développaient sur les biofilms étaient

plus résistantes aux antibiotiques que les bactéries qui se développaient sur les plantes, ce qui a conduit à des recherches sur la physiologie, la chimie et d'autres sciences. À mesure que le nombre de bactéries augmentait sur les biofilms, le terme biofilm est devenu plus approprié pour décrire la croissance des bactéries *in vivo* (Høiby, 2017).

En 1980, William Costerton a introduit le concept de biofilm, décrivant celui-ci comme des communautés microbiennes qui se fixent aux surfaces biotiques ou abiotiques grâce à des mécanismes spécifiques, et qui confèrent des avantages dans leur niche écologique particulière (Costerton *et al.*, 1978).

### I.3 Caractéristiques des biofilms

Les biofilms sont le résultat de processus cycliques systémiques complexes impliquant des particules organiques et inorganiques et de même qu'aux micro-organismes présents sur des surfaces humides, qui produisent alors des EPS (exopolysaccharides), des biopolymères impliqués dans le processus de fixation du biofilm. La structure et la composition de ces assemblages biologiques varient considérablement. Ce changement résulte de ce processus complexe, qui est influencé par : les caractéristiques du site de formation du biofilm, les conditions environnementales incluant les nutriments, l'oxygène, les surfaces adhésives, la pression ambiante, la température et le pH et des molécules existant initialement en surface (Yuan *et al.*, 2020).

Les biofilms peuvent être composés d'une ou plusieurs bactéries et se développent sur diverses interfaces notamment le caoutchouc, le polypropylène, le plastique, le verre, l'acier inoxydable et même les produits alimentaires, en quelques minutes seulement, ce qui est suivi par le développement de biofilms matures, au bout de quelques jours (Carrascosa *et al.*, 2021).

### I.4 Les étapes de formation d'un biofilm :

Le schéma largement reconnu de formation de biofilm implique cinq étapes (Tomé *et al.*, 2023) :

**I.4.1 Formation d'un film conditionnant :** Les molécules organiques absorbées à la surface, qui constituent le conditionnement de celle-ci, fonctionnent comme un signal nutritionnel, amorçant ainsi le processus de formation du biofilm. Ce film va altérer les caractéristiques physico-chimiques de la surface, comme la tension superficielle et la polarité, et il peut soit inhiber soit stimuler l'adhérence des bactéries. Il est possible que des charges négatives soient acquises, ce qui pourrait réduire l'hydrophobicité. Les composants de ce film serviront de substrat aux micro-organismes qui s'attacheront à la surface (Tomé *et al.*, 2023).

L'accumulation de molécules à l'interface solide-liquide sur les surfaces en contact avec les aliments entraîne une concentration accrue de nutriments par rapport à la phase liquide (Kumar et Anand, 1998) .

Suite au conditionnement rapide de la surface, la phase suivante implique le déplacement des microorganismes à proximité de cette surface. Ce déplacement est facilité par les propriétés dynamiques du milieu et les caractéristiques physico-chimiques de la surface du substrat. De plus, divers appendices bactériens tels que les flagelles et les cils jouent un rôle essentiel dans ce processus (Ziadi, 2017).

**I.4.2 Adhésion :** La seconde phase de la formation des biofilms consiste en la fixation des micro-organismes sur la surface conditionnée. Ce processus peut être actif ou passif, dépendant de la motilité bactérienne ou du transport des cellules planctoniques par gravité, diffusion ou forces dynamiques des fluides depuis la phase fluide environnante. Les propriétés physicochimiques de la surface des cellules bactériennes sont essentielles pour déterminer l'adhésion des cellules lors de cette phase initiale d'attachement (van Loosdrecht *et al.*, 1990). L'adhésion bactérienne est également influencée par la disponibilité des nutriments dans le milieu environnant et par le stade de croissance des cellules bactériennes elles-mêmes. Ce processus d'adhésion des cellules se déroule principalement en deux étapes : une adhésion réversible, suivie d'une adhésion irréversible (Kumar et Anand, 1998).

- I.4.2.1 Adhésion réversible :** Une fraction des bactéries planctoniques transportées par l'eau se dépose à la surface des canalisations dans un processus d'adsorption réversible. Ce phénomène est principalement gouverné par des interactions physiques telles que les forces électrostatiques et électrodynamiques. Il est influencé par la nature et l'état préalable du support tel que la présence de tubercules de corrosion. Les bactéries ne sont attachées au support que de manière temporaire (figure1-1) et peuvent facilement se détacher sous l'effet des contraintes hydrodynamiques exercées par le milieu environnant. Cette étape est généralement non spécifique et de courte durée, d'environ 5 à 10 heures (Gauthier *et al.*, 1989).
- I.4.2.2 Adhésion irréversible :** En temps réel, un nombre initial de cellules adsorbées de manière réversible demeurent immobilisées et subissent une transition vers une adsorption irréversible (figure1,2). Il a été avancé que les appendices physiques des bactéries, tels que les flagelles, fimbriae et les pili, surmontent les forces physiques répulsives de la double couche électrique. Par la suite, ces appendices entrent en contact avec le réseau global de la couche de conditionnement, ce qui entraîne des réactions chimiques telles que l'oxydation et l'hydratation, consolidant ainsi la liaison entre les bactéries et la surface. Des éléments de preuve indiquent que l'adhésion microbienne dépend fortement des propriétés hydrophobes-hydrophiles des surfaces en interaction (Garrett *et al.*, 2008).
- I.4.3 Formation de micro-colonies :** Appelé également la maturation précoce les cellules bactériennes, une fois fixées de manière permanente, se développent et se divisent en utilisant les nutriments présents dans le film de conditionnement et le fluide environnant. Elles forment alors des micro-colonies (figure1-3) qui s'agrandissent et finissent par fusionner, créant une couche de cellules couvrant la surface (Mogha *et al.*, 2014). Pendant cette phase, les cellules attachées produisent également un polymère supplémentaire (EPS) qui renforce l'ancrage des cellules à la surface et stabilise la colonie face aux variations de l'environnement (Characklis et Marshall, 1990). Le microenvironnement de la surface subit des modifications au fur et à mesure que les premiers colonisateurs s'attachent, se développent, se divisent et produisent de l'EPS (Kumar et Anand, 1998).

**I.4.4 Maturation :** Sauer et ses collaborateurs (2002) ont distingué deux phases de maturation dans le processus de formation du biofilm : la maturation-1 et la maturation-2.

**I.4.4.1 La maturation-1 :** se caractérise par une importante régulation positive des gènes et correspond à la période où une différence phénotypique notable entre les cellules sessiles et planctoniques est observée. Au cours de cette phase, les protéines d'arc impliquées dans les processus anaérobies sont fortement régulées positivement, suggérant qu'une limitation en oxygène peut survenir dans certaines zones du biofilm, probablement à proximité du substrat (Sauer *et al.*, 2002).

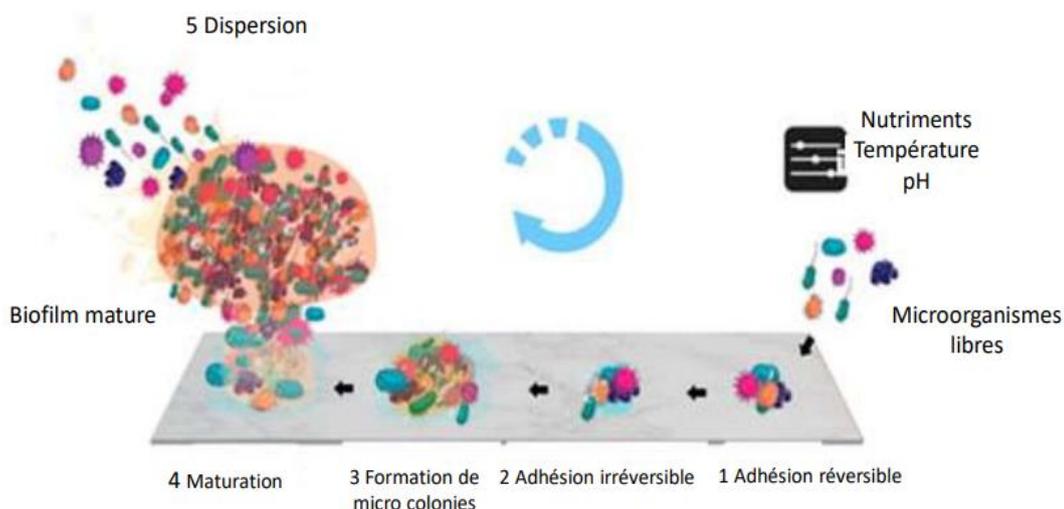
**I.4.4.2 La maturation-2 :** marque l'atteinte de l'épaisseur maximale du biofilm et représente également la phase où la plus grande disparité entre les protéines des cellules bactériennes sessiles et planctoniques se manifeste. Les protéines présentes lors de la maturation-2 diffèrent significativement de celles observées lors de la maturation-1, témoignant d'une régulation positive étendue des gènes. Certains de ces gènes contribuent à la formation de la matrice d'EPS, une structure stable et protectrice présente dans les communautés de biofilm (Clutterbuck *et al.* 2007). Cette matrice est constituée de molécules organiques telles que des protéines et des polysaccharides, et peut occuper jusqu'à 75 à 95 % du volume d'un biofilm mature. Les EPS proviennent de la dégradation des bactéries, mais également de la synthèse et de la sécrétion par la bactérie pendant sa croissance en biofilm (Haras , 2005).

**I.4.5 Dispersion du biofilm :** Une fois l'épaisseur maximale atteinte, les dernières étapes de la formation du biofilm commencent. C'est ce qu'on appelle la phase de dispersion et implique la libération des cellules planctoniques du biofilm (figure1,5) (Clutterbuck *et al.*, 2007).

À mesure que le biofilm mûrit, il consomme une grande quantité de ressources nutritives et accumule des substances toxiques. En conséquence, pour obtenir plus de nutriments, les cellules bactériennes du biofilm se dispersent de la surface du biomatériau et migrent vers d'autres zones. Le mécanisme de dispersion chez les bactéries se déroule généralement en trois étapes : d'abord, les cellules quittent la microcolonie ; ensuite, elles se déplacent vers un nouveau substrat , et enfin, elles

s'attachent à un nouveau substrat et entament un nouveau processus de formation de biofilm (Li *et al.*, 2023).

La perte de cellules dans un biofilm ne se produit pas uniquement à son stade final de développement. Elle peut survenir à tout moment pendant la formation du biofilm et en réponse à des changements environnementaux. Plusieurs mécanismes passifs peuvent entraîner cette perte de cellules intactes, notamment la limitation de l'oxygène dans les biofilms épais, les forces de cisaillement dues aux conditions hydrodynamiques, la diminution des nutriments disponibles et des modifications de leur composition. De plus, la diminution de la biomasse d'un biofilm peut être causée par des agents chimiques tels que des tensioactifs, des enzymes, des dérivés chlorés, des chélateurs, ou des modifications du pH. Selon l'agent en question, cela peut entraîner soit la mort cellulaire, soit le détachement des bactéries, avec un faible taux de mortalité (Haras , 2005).



**Figure 1: Etapes de formation de biofilm microbien (Zhou *et al.*, 2022).**

## I.5 Structure du biofilm

Au cours des vingt dernières années, l'appréciation de la complexité structurelle et développementale des biofilms ainsi que leur importance dans les environnements naturels et artificiels a considérablement augmenté. Cela est en grande partie dû aux progrès simultanés dans les techniques d'imagerie et moléculaires sophistiquées, qui ont permis d'identifier les mécanismes sous-jacents au développement des biofilms. Les

observations *in situ* de la structure des biofilms par microscopie laser confocale ont révélé que les bactéries sessiles se développent en micro-colonies hétérogènes enfermées dans une matrice, traversées par des canaux d'eau libres. Cette architecture complexe a été l'un des premiers indices indiquant que le développement des biofilms n'est pas simple et uniforme, mais plutôt complexe et différencié. En particulier, la capacité des canaux à favoriser une absorption efficace des nutriments en infusant le fluide de la phase globale dans le biofilm a été identifiée comme un mécanisme essentiel, optimisant ainsi l'échange de nutriments et de déchets (Hall-Stoodley *et al* , 2004).

Dans la plupart des biofilms, les micro-organismes représentent généralement moins de 10 % de la masse sèche, tandis que la matrice peut constituer plus de 90 % de celle-ci. Cette matrice, également appelée matériau extracellulaire, est principalement produite par les organismes eux-mêmes. Elle agit comme un conglomérat de différents types de biopolymères, connus sous le nom de substances polymères extracellulaires (EPS), qui forment l'échafaudage de l'architecture tridimensionnelle du biofilm. Cette matrice est responsable de l'adhésion aux surfaces et de la cohésion du biofilm (Flemming et Wingender, 2010).

## I.6 Composition du biofilm

Le biofilm est une structure complexe composée principalement de cellules microbiennes représentant généralement de 10 à 25 % et d'une matrice EPS autoproduite constituant de 75 à 90 %, comme illustré dans le tableau 1. Dans un biofilm hétérogène, les vides interstitiels ou les canaux d'eau sont nécessaires pour séparer les microcolonies les unes des autres. L'EPS forme une structure qui maintient le biofilm ensemble, favorisant ainsi la communication cellulaire et fournissant les forces d'adhésion et de cohésion nécessaires à sa formation. De plus, l'EPS facilite le cycle des nutriments en maintenant la disponibilité de l'ADN pour le transfert horizontal de gènes (Horizontal gene transfer HGT) et agit comme une barrière protectrice contre divers agents tels que les biocides oxydants, les antibiotiques, les rayonnements ultraviolets, la dessiccation et les défenses immunitaires de l'hôte (Rather *et al* , 2021).

Cette matrice peut être fixée sur des surfaces dures telles que les équipements de l'industrie agroalimentaire, les surfaces de transport, de distribution et de stockage, ainsi que les sols, ou sur des structures biologiques. La matrice extracellulaire joue un rôle structurel crucial, contribuant à la forte persistance des biofilms dans l'industrie

agroalimentaire. Elle génère des gradients complexes de nutriments et d'oxygène, contient des enzymes extracellulaires utilisées à des fins nutritionnelles, facilite le transfert de molécules de communication cellulaire et protège les cellules intégrées contre les composés toxiques (Carrascosa *et al.*, 2021).

**Tableau 1:** Composition du biofilm (Rather *et al.*, 2021).

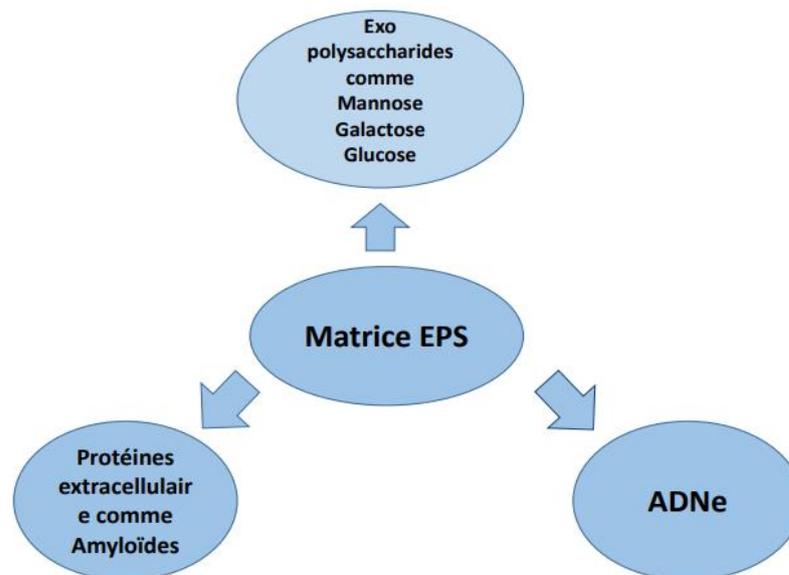
Composants	Pourcentage (%)
Cellules microbiennes	2 à 5
Eau	Jusqu'à 97
Polysaccharides	1-2
Protéines	<1-2 (y compris les enzymes)
ADN et ARN	<1-2

Les éléments constitutifs principaux de la matrice EPS peuvent être catégorisés de la manière suivante (figure2) :

**I.6.1 Polysaccharides :** La majorité des polysaccharides sont hétérogènes, tandis que certains, comme la cellulose, les fructanes dérivés du saccharose et les glucanes, sont homogènes. Les interactions variées telles que les forces de Van der Waals, les interactions électrostatiques d'attraction et de répulsion, les forces ioniques d'attraction, ainsi que les liaisons hydrogène, favorisent l'interaction des polysaccharides entre eux ou avec les protéines et les ions nécessaires pour maintenir la structure et la stabilité de la matrice du biofilm (Rather *et al.*, 2021).

Le mannose, le galactose et le glucose sont les glucides prédominants dans l'EPS. Bien que la majorité des exopolysaccharides ne sont pas spécifiques aux biofilms, leur production s'accroît en réponse au stress environnemental (Dwivedi et Sehgal, 2022).

- I.6.2 Protéines extracellulaires :** Les protéines extracellulaires présentes dans la matrice du biofilm sont un mélange de différentes origines, comprenant des protéines sécrétées, des sous-unités protéiques issues des appendices cellulaires tels que les pili et les flagelles, ainsi que des protéines d'adhérence à la surface cellulaire et des protéines des vésicules de la membrane externe. Ces protéines interagissent avec les exopolysaccharides et les composants d'acide nucléique, ce qui contribue à la stabilisation de la matrice du biofilm, à la colonisation de la surface, et au maintien de son intégrité et de son architecture (Rather, *et al* , 2021).
- I.6.3 ADN extracellulaire :** L'ADN extracellulaire (ADNe) figure parmi les éléments essentiels de la matrice d'EPS, jouant un rôle crucial dans l'agrégation des micro-organismes au sein du biofilm. Les origines de l'ADNe sont variées, incluant sa libération par les systèmes de sécrétion bactérienne, la mort cellulaire causée par les phages, l'autolyse, ainsi que la libération régulée d'ADN en réponse au quorum sensing (Rather *et al.* 2021).
- I.6.4 Eau :** L'eau est essentielle à la structure du biofilm, en assurant son hydratation et en le préservant contre le dessèchement, même lors de changements dans l'environnement. De plus, la présence d'eau est cruciale pour le transport et le maintien des nutriments essentiels à l'intérieur du biofilm (Rather *et al.* 2021).
- I.6.5 Microorganismes :** La composition des micro-organismes présents dans un biofilm est très diversifiée, pouvant englober une gamme étendue de bactéries à Gram positif et à Gram négatif, de levures, voire même de champignons filamenteux (Agarwal *et al.*,2010).



**Figure 2:** Composants de la matrice EPS du biofilm (Dwivedi et Sehgal, 2022).

### I.7 Rôle du biofilm

Les biofilms sont regroupés en trois principales catégories : bénéfiques, neutres et nocifs, en fonction de leur impact sur divers aspects de la vie humaine, tels que l'environnement, la sécurité alimentaire, la production agricole et médicale, entre autres (Yin *et al.*, 2021).

Les biofilms bénéfiques sont essentiels à de nombreuses fonctions, comme le traitement des eaux usées, la dégradation biologique et la réhabilitation écologique des cycles chimiques. Par exemple Dans les processus de dégradation et de réhabilitation, ces biofilms génèrent des communautés microbiennes spécifiques pour décomposer des substances telles que les herbicides, les pesticides, les antibiotiques et les plastiques, contribuant ainsi à la purification des sols et des eaux contaminées (Yin *et al.*, 2021). Il est important de noter que le biofilm pourrait potentiellement protéger les aliments contre l'oxydation des lipides, ainsi que contre les gaz, l'eau et les odeurs(Olanbiwoninu et Popoola, 2023).

Les biofilms nocifs représentent une menace pour la sécurité alimentaire et sont responsables de maladies animales et végétales. Leur présence est courante dans les processus de transformation, d'emballage et de stockage des aliments, ce qui peut entraîner une détérioration notable de leur qualité (Garcia-Sanchez *et al.*, 2019 ; Ripolles-Avila *et al.*, 2019 ; Sternisa *et al.* 2019 ; Ng *et al.* 2017). De plus, les maladies végétales et animales causées par ces biofilms nocifs sont souvent difficiles à maîtriser, ce qui peut entraîner une diminution significative des rendements et de la qualité des cultures (Yaron et Römling, 2014).

Un troisième type de biofilms existe également, ceux qui ne sont ni nocifs ni bénéfiques. Ces biofilms sont courants dans les environnements naturels, tels que les montagnes, les zones humides et les milieux marins éloignés des activités humaines. D'autres se trouvent dans la vie quotidienne des humains sans causer de préjudice ni fournir d'avantages particuliers. En raison de leur absence d'effets nocifs ou bénéfiques, il existe peu de rapports disponibles à leur sujet. Par conséquent, nous les classons temporairement comme des biofilms neutres (Yin *et al.* 2021).

### **I.8 Les biofilms en industries laitières :**

Le lait est généralement considéré comme un milieu idéal pour la croissance microbienne et la formation de biofilms dans les environnements laitiers. De plus, en raison de la nature extrêmement complexe de l'installation, les chaînes de transformation laitière offrent un environnement idéal pour la formation de biofilms. La matrice complexe du biofilm et les altérations de la physiologie cellulaire du biofilm protègent les micro-organismes des désinfectants, des antibiotiques, du pH, des UV et des stratégies de séchage dans l'industrie laitière ( Kumari et Sarkar, 2018 ; Yuan *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2022 ).

Les biofilms sont devenus une préoccupation majeure dans diverses industries alimentaires. Leurs effets néfastes incluent la dégradation des produits, la diminution de la capacité de production, la corrosion, les pannes d'équipement, les obstructions des conduites et les infections. Les bactéries responsables de la détérioration des aliments représentent environ un tiers des pertes dans la chaîne d'approvisionnement alimentaire. La formation de biofilms bactériens dans le processus de fabrication alimentaire est particulièrement préoccupante pour l'industrie laitière (Kilic, 2020).

Pendant le processus de transformation du lait, notamment lors des étapes de chauffage, les protéines et les minéraux présents dans le lait ont tendance à créer des dépôts sur les échangeurs de chaleur, les évaporateurs et les filtres à membrane. Ces dépôts se distinguent en deux types en fonction de la température du procédé. À des températures comprises entre 75 °C et 115 °C, un dépôt relativement mou et volumineux se forme, connu sous le nom d'encrassement protéique en raison de sa teneur élevée en protéines (50 à 70 % en poids). Un deuxième type d'encrassement, appelé encrassement minéral, se forme rapidement à des températures dépassant 110°C. Ce dépôt est caractérisé par sa dureté, sa structure granuleuse et sa forte concentration en minéraux (jusqu'à 80 % en poids), avec seulement 10 à 20 % de protéines (Bremer *et al.*, 2009).

Les molécules organiques et inorganiques telles que les protéines du lait sont adsorbées à la surface des produits laitiers, créant ainsi un film de conditionnement. Le transport de ces molécules et des micro-organismes vers la surface se fait par diffusion ou, dans certains cas, par l'écoulement turbulent du liquide. Ensuite, ils se regroupent à l'interface solide-liquide de la surface de contact du lait, où la concentration en nutriments est supérieure à celle de la phase fluide. Il est également crucial de réaliser une microtopographie de la surface de contact du lait, surtout si elle présente des canaux profonds et des crevasses qui captent les bactéries (Mogha *et al.*, 2014).

Les biofilms présents dans les équipements de transformation des produits laitiers posent de divers problèmes, tels que la corrosion accrue des surfaces métalliques, la réduction de l'efficacité du transfert de chaleur, la diminution du débit des canalisations et l'augmentation de la résistance au frottement des fluides. Ces problèmes compromettent la qualité microbiologique des produits finaux et entraînent des pertes économiques. Par conséquent, l'élimination des micro-organismes contenus dans les biofilms demeure un défi majeur pour l'industrie laitière (Cherif-Antar *et al.*, 2016).

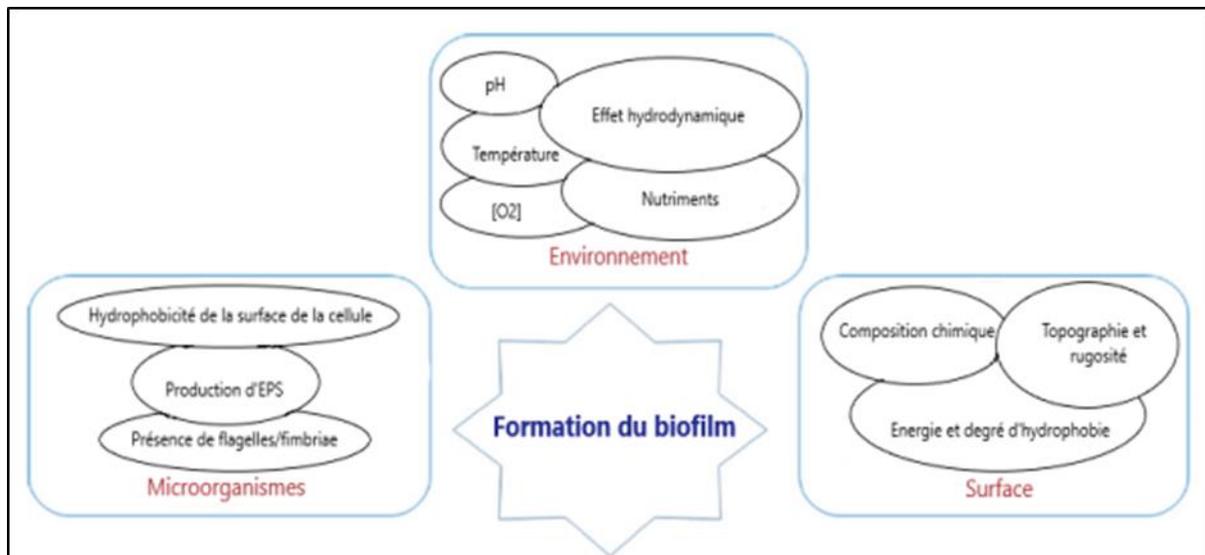
Il est donc essentiel de contrôler régulièrement les équipements de transformation des produits laitiers pour détecter la formation de biofilms et de les nettoyer efficacement afin d'éviter le gaspillage du lait et de protéger les consommateurs contre les agents pathogènes (Marchand *et al.*, 2012).

---

**Chapitre II :**  
**Facteurs influençant**  
**la formation du biofilm**

---

La formation d'un biofilm est un processus complexe, influencé par de nombreux facteurs, tels que les propriétés du substrat sur lequel les bactéries s'attachent, les forces présentes dans le milieu liquide (hydrodynamique du fluides), les caractéristiques environnementales et les propriétés de surface des cellules (figure3).



**Figure 3: Principaux facteurs affectant la formation de biofilm (Speranza et Corbo, 2017).**

## II.1 Caractéristiques de la surface

Tout matériau exposé à un fluide contenant des bactéries peut potentiellement servir de support à la formation d'un biofilm. La rugosité de la surface, ses propriétés chimiques, ainsi que la présence éventuelle de films protéiques préexistants, influencent l'adhésion des bactéries à cette surface et la formation d'un biofilm (De Chalvet De Rochemonteix, 2009).

**II.1.1 Rugosité de la surface :** La rugosité de la surface accroît l'espace disponible pour la fixation bactérienne et fournit un support pour l'adhésion. De plus, les surfaces rugueuses peuvent protéger les bactéries contre les forces de cisaillement, empêchant ainsi leur détachement. Par conséquent, il est généralement admis que l'augmentation de la rugosité de la surface favorise l'adhésion bactérienne et la formation de biofilm (Zheng *et al.*, 2021).

**II.1.2 Propriétés physico-chimiques de la surface :** Les propriétés physico-chimiques de la surface sont déterminantes pour le taux et l'étendue de l'attachement des micro-organismes. Les surfaces hydrophobes et non polarisées, comme le téflon ou certaines matières plastiques, facilitent davantage la fixation des micro-organismes par rapport aux surfaces hydrophiles comme le verre ou les métaux. Les cellules peuvent surmonter les forces de répulsion exercées par le substrat grâce à des interactions hydrophobes (Bendinger *et al.*, 2003).

**II.1.3 Présence de films protéiques sur la surface :** Une surface de matériau exposée à un milieu aqueux sera rapidement conditionnée ou enveloppée par des polymères provenant de ce milieu, et les modifications chimiques qui en découlent influenceront la vitesse et l'étendue de l'attachement microbien. En effet plusieurs films de conditionnement, produits par l'hôte comme le sang, les larmes, l'urine, la salive, le liquide interstitiel et les sécrétions respiratoires, jouent un rôle dans l'adhérence des bactéries aux biomatériaux (Donlan, 2002).

## **II.2 Caractéristiques du milieu**

Divers facteurs environnementaux, tels que la température, le pH, la disponibilité des nutriments et les conditions hydrodynamiques, peuvent avoir un impact sur la formation et la composition des biofilms (Rajitha *et al.*, 2021).

**II.2.1 La température :** L'activité métabolique et enzymatique des bactéries peut être influencée par la température, ce qui peut également affecter certains paramètres physico-chimiques (comme le pH, l'activité ionique, l'agitation thermique et la solubilité des gaz) ainsi que les propriétés de surface des micro-organismes. De plus, la température de croissance peut avoir un impact significatif sur la mobilité cellulaire et la production de flagelles, influençant ainsi leur adhésion (Dumas, 2007).

**II.2.2 Le pH :** L'attachement des bactéries au support est significativement influencé par le pH. Plusieurs études ont montré que la plupart des bactéries se développent de manière optimale à un pH neutre ou légèrement alcalin. Stanley (1983) a montré que la fixation des bactéries peut varier en fonction du pH et qu'elle est généralement maximale à leur optimum métabolique. Le pH du milieu environnant modifie la charge de surface des microorganismes ainsi que celle des supports solides en raison des changements d'ionisation (protonation/ déprotonation) des groupements fonctionnels exposés, en fonction de leur pKa. Ces modifications peuvent entraîner une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques répulsives, ce qui peut favoriser ou entraver l'adhésion bactérienne (Boutaleb, 2007).

**II.2.3 Concentrations en nutriments :** Dans un environnement statique, une concentration élevée en nutriments est nécessaire pour favoriser la formation d'un biofilm, tandis que dans un milieu hydrodynamique, cette exigence est moindre (Spormann, 2008).

Des études indiquent que les milieux de culture riches en nutriments peuvent encourager la formation de biofilms. De plus, la présence de glucose et de NaCl semble également exercer une influence sur la formation de biofilms de bactéries pathogènes telles que *S. aureus* et *P. aeruginosa* (Abdallah *et al.*, 2014).

### II.3 Propriétés des cellules

L'attachement des bactéries à une surface est influencé par l'hydrophobicité de leur surface cellulaire, la présence de fimbriae et de flagelles, ainsi que par la production d'exopolysaccharides. La plupart des bactéries possèdent une charge négative et des zones hydrophobes à leur surface, ce qui affecte leur adhésion. Lorsque les surfaces sont moins polarisées, les interactions hydrophobes jouent un rôle plus important dans l'attachement des bactéries (Liesse, 2012).

La formation d'une liaison stable avec une surface est facilitée par des structures adhésives comme les filaments adhésifs (fimbriae, pili) ainsi que par d'autres composants non filamenteux tels que les exopolysaccharides (EPS) et les capsules (Perrin, 2009).

### II.4 Interaction des particules

La structure du biofilm peut également être influencée par l'interaction avec des particules non microbiennes provenant de l'hôte ou de l'environnement. Par exemple, les érythrocytes et la fibrine peuvent s'accumuler pendant la formation du biofilm (Donlan 2002).

**Tableau 2:** Les importants facteurs intervenant dans la fixation des cellules microbiennes et la formation de biofilm (Donlan 2002).

Propriétés du substrat	Propriétés du milieu	Propriétés de la cellule
Texture ou rugosité	La vitesse d'écoulement	Hydrophobicité de la surface cellulaire
Hydrophobicité	pH	Fimbriae
Film de conditionnement	Température	Flagelles
	Cations	Substances polymériques extracellulaire
	Présence d'agents antimicrobiens	

---

**Chapitre III :**  
**Généralités sur *Escherichia***  
***coli***

---

### III.1 Définition et habitat

*Escherichia coli* est une bactérie à Gram négatif en forme de bâtonnet appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. Cette bactérie vit principalement dans l'intestin inférieur des animaux à sang chaud, y compris chez l'homme, elle est souvent évacuée dans l'environnement par les matières fécales ou les eaux usées contaminées (Jang *et al.*, 2017).

La concentration d'*Escherichia coli* par gramme de matières fécales varie considérablement chez l'homme, allant de  $10^7$  à  $10^9$  unités formant colonie (UFC), tandis qu'elle est nettement plus faible chez les animaux domestiques, avec une moyenne allant de  $10^4$  à  $10^6$  UFC (Tenaillon *et al.*, 2010).

*Escherichia coli* est une bactérie indicatrice fécale (BIF). plusieurs recherches ont souligné que les populations d'*E.coli* dans l'environnement sont influencées par les conditions environnementales qui impactent leur survie à long terme (Jang *et al.*, 2017). La classification est la suivante :

- **Règne** : *Procaryotae*
- **Domaine** : *Bacteria*
- **Phylum** : *Proteobacteria*
- **Classe** : *Gammaproteobacteria*
- **Ordre** : *Enterobacteriales*
- **Famille** : *Enterobacteriaceae*
- **Genre** : *Escherichia*
- **Espèce** : *Escherichia coli*

### III.2 Historique de découvert

Theodor Escherich, un médecin-scientifique éminent du XIXe siècle, a été un précurseur dans l'application des méthodes de Robert Koch en pédiatrie. En tant que l'un des premiers à explorer le microbiome, il a jeté les bases du domaine de la pathologie intestinale. Bien qu'il ait joui d'une reconnaissance internationale à son époque, Escherich est aujourd'hui surtout connu pour sa découverte d'une bactérie qu'il a nommée *Bacterium coli commune*. Dans son premier livre, publié à l'âge de 29 ans, il décrit comment cette bactérie est présente dans le côlon des nouveau-nés nourris au lait à des niveaux bien plus élevés que chez les adultes. Dans la

troisième édition de 1919 de leur Manuel des maladies tropicales, Castellani et Chalmers ont proposé de renommer la bactérie comme *Escherichia coli* (Ruiz et Silhavy, 2022).

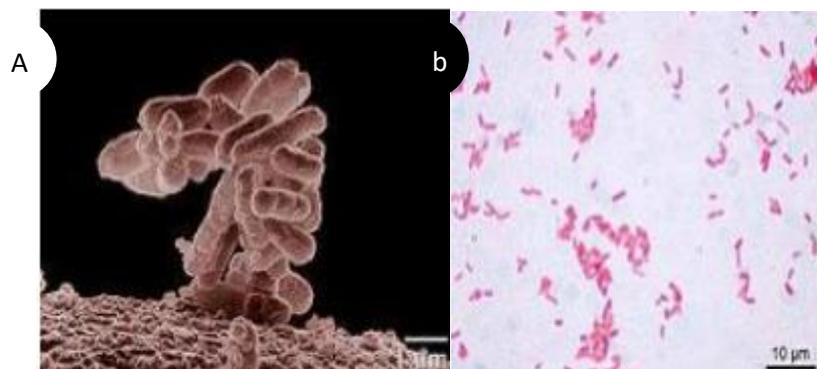
### III.3 Pathogénicité et plasticité du génome

*E. coli* est une espèce commensale qui établit une relation mutualiste avec son hôte. Cependant, elle peut aussi agir en tant que pathogène opportuniste ou obligatoire en exprimant des facteurs de virulence spécifiques. Les souches pathogènes opportunistes ou obligatoires ont développé diverses façons d'interagir avec leur hôte, entraînant une gamme variée de symptômes cliniques. Elles sont généralement divisées en deux catégories : les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC), qui causent des gastro-entérites, et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), impliqués dans les infections urinaires, les péritonites, les pneumonies nosocomiales, les méningites et les sepsis. En fonction des interactions entre l'hôte et la bactérie ainsi que des manifestations cliniques de l'infection, les souches sont classées en "pathovars" ou "pathotypes" regroupant des souches de sérotypes spécifiques (Pantel, 2015).

### III.4 Caractères bactériologiques

Les principales caractéristiques bactériologiques de l'espèce *E. coli* sont décrits comme suit :

**III.4.1 Caractères morphologiques :** *E-coli* se présente sous forme d'un bacille à bout arrondi, Gram négatif, d'une longueur d'environ 2 à 4µm sur 0,6µm de large, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolée ou en petites chaînettes, et dans certains cas, sous forme de filaments très longs (figure4). Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité varie considérablement en fonction du milieu où la souche a étéensemencée (Bey,2009 ; Hart et Shears,1999).



**Figure 4:** *E. Coli* sous microscope électronique(a) et après coloration de Gram(b) (Bedrane *et al.*, 2020)

**III.4.2 Caractères culturels :** *E. coli* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, ce qui signifie qu'elle peut se développer en présence ou en absence d'oxygène. Elle se cultive aisément sur des milieux de culture ordinaires à une température de 37 °C et à un pH de 7,5 (figure2). Lorsqu'elle est cultivée sur gélose nutritive, elle forme généralement des colonies rondes, humides et brillantes. Ces colonies peuvent présenter une couleur blanchâtre ou légèrement jaunâtre, et elles peuvent être lisses (S) ou rugueuses (R), parfois même muqueuses (Denis et Masson,2007).



**Figure 5:** Aspect d'*E. coli* sur gélose nutritive (Bedrane *et al.*, 2020)

**III.4.3 Caractères biochimiques :** *E.coli* possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase L'étude des activités enzymatiques et de la fermentation des sucres est effectuée à l'aide de micro-méthodes validées, disponibles dans le commerce sous forme de galeries. Ces galeries permettent l'identification ainsi que le diagnostic différentiel avec d'autres bactéries de la même famille (Ben Abdallah et Hamlaoui, 2016). Ces caractères sont regroupés dans le Tableau 3 :

Tableau 3: Caractères biochimiques d'*E.coli*(Bedrane *et al.*, 2020)

Test	Résultats
GLUCOSE	+
LACTOSE	+
H <sub>2</sub> S	-
GAZ	+
CS	-
ONPG	+
GELOSE	-
MALTOSE	-
NITRATE	+
LDC	+/-
ODC	+/-
ADH	+/-
URE	-
TDA	-
INDOLE	+
RM	+
VP	-

(+) : caractère positif, (-) : caractère négatif, (+/-) : caractère inconstant

**III.4.4 Caractères antigéniques :** Les antigènes O sont liés aux lipopolysaccharides de la paroi cellulaire et présentent une diversité qui permet d'identifier au moins 164 spécificités distinctes. Les antigènes H, associés aux protéines des flagelles, sont également très variables. Leur caractérisation permet de définir le sérotype d'une souche d'*E. coli*. Les antigènes K sont principalement constitués de polysaccharides et sont répartis de manière inégale au sein de l'espèce (Joly et Beynaud, 2002).

### III.5 Pouvoir pathogène

*E. coli* présente une diversité remarquable de pathotypes, qui peuvent causer des infections intestinales ou extra-intestinales. Les souches pathogènes intestinales d'*E. coli* sont regroupées sous la dénomination commune "Intestinal Pathogenic *E. coli*" (InPEC). Parmi les InPEC, six pathotypes sont distingués en fonction de l'expression de leur virulence : les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), les *E. coli* entéropathogènes (EPEC), les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), les *E. coli* entéroagrégatifs (EAEC), et les *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC). En outre, un septième pathovar est soupçonné d'être responsable de toxi-infection alimentaire collective survenue en Allemagne

en 2011. On distingue deux pathotypes majoritaires : les *E. coli* uropathogènes (UPEC) et les *E. coli* impliqués dans les méningites néonatales (NMEC) (Massot *et al.*, 2016).

### III.6 Facteurs environnementaux influençant la croissance et survie d'*Escherichia coli*

La croissance et la survie d'*E. coli* dans les environnements naturels peuvent être influencées par une combinaison de facteurs biotiques et abiotiques. Les facteurs abiotiques incluent des éléments tels que la température, la disponibilité en eau et en nutriments, le pH et radiation solaires. Les facteurs biotiques, quant à eux, englobent la présence d'autres micro-organismes ainsi que la capacité d'*E. coli* à acquérir des nutriments, à rivaliser avec d'autres micro-organismes et à former des biofilms dans les milieux naturels (Jang *et al.*, 2017).

**III.6.1 La température :** La température est sans doute le facteur le plus déterminant pour la survie et la croissance d'*E. coli* dans l'environnement. Dans le tractus intestinal des animaux à sang chaud, où la température est stable et optimale pour la croissance d'*E. coli* (36-40°C), ces conditions favorisent particulièrement son développement. *Escherichia coli* peut se développer dans le sol à des températures supérieures à 30°C, bien que leur taux de mortalité soit plus élevé par temps chaud (>30°C) que par temps froid (<15°C) (Ishii *et al.*, 2006, 2010).

**III.6.2 Disponibilité de l'eau :** La dessiccation est l'un des stress fréquents subis par les bactéries dans les environnements naturels. La réhydratation peut créer un environnement anoxique autour des cellules (van Elsas *et al.*, 2011). La croissance d'*E. coli* dans le sol a été négativement impactée par la dessiccation du sol, tandis que les taux de survie d'*E. coli* ne différaient pas entre les sols secs et humides (Ishii *et coll.*, 2010).

Après réhydratation, *E. coli* qui a survécu dans le sol desséché a montré une croissance, indiquant que la disponibilité de l'eau est essentielle à la croissance d'*E. coli* (Jang *et al.*, 2017).

**III.6.3 Disponibilité des nutriments :** La disponibilité de nutriments tels que le carbone, l'azote et le phosphore est également un facteur crucial influençant la survie et la croissance d'*E. coli* dans l'environnement (Díaz *et al.*, 2001).

**III.6.4 Le pH :** Le pH environnemental peut aussi avoir un impact sur la survie et la croissance d'*E. coli* dans le sol, avec une variation de la résistance au pH selon les différentes souches (van Elsas *et al.*, 2011).

### III.7 Biofilm d'*Escherichia coli*

Les biofilms d'*Escherichia coli* sont des communautés microbiennes structurées qui adhèrent à des surfaces et sont entourées d'une matrice polymérique extracellulaire. Ces biofilms peuvent se former rapidement et persister dans divers environnements :

**III.7.1 Biofilm d'*E.coli* dans le domaine clinique :** Les biofilm d'*Escherichia coli* consiste en une colonie bactérienne intégrée dans une matrice de substances polymères extracellulaires (EPS) qui protège les microorganisme des conditions environnementales défavorables et entraîne une infection. En plus d'être le principal agent causal des infections récurrentes des voies urinaires, le biofilm d'*E. coli* est également responsable de l'infectiosité interne liée aux dispositifs médicaux. La communication de cellule à cellule au sein du biofilm se produit grâce à des capteurs de quorum capables de moduler les principaux acteurs biochimiques permettant aux bactéries de proliférer et d'intensifier les infections qui en résultent. La diversité des composants structurels du biofilm s'aggrave en raison du développement de la résistance aux antibiotiques, ce qui entrave son éradication. Les agents antimicrobiens classiquement utilisés ont une gamme restreinte de cibles cellulaires et une efficacité limitée sur les biofilms. Cela souligne la nécessité d'explorer d'autres agents thérapeutiques tels que les composés anti-adhérents, les produits phytochimiques et les nanomatériaux pour une administration efficace des médicaments afin de limiter la croissance du biofilm (Sharma *et al.*, 2016).

**III.7.2 Biofilm d'*E.coli* Dans le domaine agroalimentaire :** La présence d'*E. coli* signale des conditions insalubres dans l'industrie alimentaire, en faisant un indicateur clé d'hygiène.

La principale souche pathogène d'*E. coli*, EHEC-O157:H7, peut provoquer des diarrhées infectieuses et des entérites hémorragiques. Cette souche contamine principalement les humains via des aliments tels que la viande fraîche, les fruits, les légumes, le lait cru et les produits laitiers. *E. coli* O157:H7 est hautement pathogène, résistant à l'acide gastrique et destructeur pour les cellules. Comme de nombreux microbes d'origine alimentaire, *E. coli* peut former des biofilms en adhérant à diverses surfaces en contact avec les aliments. Ces biofilms sont plus résistants aux stress environnementaux, tels que l'exposition aux rayons UV, aux agents désinfectants, aux stress nutritionnels et oxydatifs, ainsi qu'à la dessiccation (Liu *et al.*, 2023).

*E. coli* a la capacité de créer des biofilms dans les environnements laitiers. Bien que l'industrie alimentaire rencontre de nombreux problèmes liés aux biofilms, leur formation dans ces contextes reste mal comprise, ce qui rend le contrôle efficace des biofilms un défi constant.

*E. coli* peut facilement former des biofilms sur les équipements de traitement, comme les surfaces en acier inoxydable, le polyéthylène, en raison d'un nettoyage inadéquat (Zhou *et al.*, 2022).

---

# **Matériel et méthodes**

---

Cette étude a été conduite dans le laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences et Techniques Appliquées (ISTA) ainsi que dans le laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen du 14/04/2024 au 12/05/2024

### 1. Origine des souches

Cette recherche a porté sur trois différentes souches à savoir lamaabe4- 73, lamaabe4-82 et une souche de référence appartenant à l'espèce *Escherichia coli* L'isolement, l'identification et la caractérisation des souches ont été réalisés dans une étude préalable (Cherif-Anntar *et al.*,2016)

Les deux souche (lamaabe4-73, lamaabe4-82) ont été prélevées à partir des chaînes de production de lait cru plus précisément des lignes pré et post-pasteurisation et après application du processus de nettoyage en place (NEP). L'identification moléculaire des souches a été réalisée à l'aide des techniques RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA), ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) et le séquençage de l'ADNr 16s.

Ces souches ont montré une bonne capacité à former le biofilm *in vitro* sur les microplaques de titration en polychlorure de vinyle lors d'une étude menée par Cherif-Anntar *et al.*, en 2016.

### 2. Revivification des souches

Afin de revivifier les souches, une fraction issue du stock des cultures sur glycérol à - 80°C de chaque souche est transférée dans 5 ml de Bouillon Cœur-Cervelle BHIB (Fluka, en Inde) puis incubée à 37°C pendant,24 heures.

Après incubation, les souches sont homogénéisées par agitation au vortex, puisensemencées sur la gélose Mac Conkey et incubées à 37°C pendant 24 heures.

### 3. Observation microscopique

Après incubation, une observation microscopique est effectuée pour vérifier la pureté des souches. À partir des souches d'*Escherichia coli*, des frottis bactériens sont préparés et colorés au bleu de méthylène pendant une minute. Les frottis sont ensuite rincés à l'eau, séchés et observés au microscope optique avec un grossissement de 100 en utilisant de l'huile d'immersion.

Cette technique de coloration simple permet de détecter toute contamination bactérienne et de confirmer la pureté des souches utilisées dans notre étude.

### 4. Conservation des souches

Les souches sélectionnées pour cette étude sont conservées.

La préparation des tubes de gélose inclinée se fait en utilisant des tubes en verre stériles, dans lesquels on ajoute 7 ml de gélose en suspension. Une fois la gélose solidifiée, une colonie de chaque souche d'*E. coli* estensemencée sur la surface inclinée par la technique des stries, puis incubée à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, les tubes sont être conservés au réfrigérateur à 4°C pendant une durée de 20 jours.

### 5. Effet de la source de carbone sur la formation de biofilm par *Escherichia coli*

**5.1 Préparation de la suspension bactérienne :** Afin d'évaluer la capacité formation du biofilm chez les souches, une colonie de chaque souche à étudier provenant de la culture bactérienne revivifiée est placée dans 10 ml de BHIB et incubée pendant une nuit à une température de 37°C. Après incubation, il est ajusté à une concentration finale de  $\approx 10^6$  UFC/ml.

#### 5.2 Formation de biofilm par *E-coli*

**5.2.1 Protocole :** Un total de trois sucres couramment rencontrés dans l'industrie laitière à été choisi : le glucose (Specilab, Algérie), le lactose (Biochem Chemopharma, France) et le galactose (Biochem Chemopharma, France) pour tester leur effet sur la formation de biofilm

Différentes concentrations de ces sucres, allant de 0,5 à 2.5%, c'est-à-dire 0,5, 1, 1,5,2 et 2.5% ont été sélectionnées.

La formation de biofilm est réalisée sur les microplaques de titration à 96 puits. Pour chaque souche, 3 puits de la microplaque sont remplis individuellement par 150  $\mu$ l du bouillon BHI additionné d'un type de sucre à une concentration précise. Ensuite, 10  $\mu$ l de la suspension bactérienne est inoculée dans chaque puits. Les puits du contrôle négatif sont remplis uniquement avec le milieu de culture BHIB.. Les microplaques sont incubées est faite par la suite en aérobiose à 25, 30 et 40°C pendant 24, 48, 72h.

**5.2.2 Quantification des biofilms formés :** Pour évaluer la quantité de biofilm formé, les étapes suivantes sont appliquées :

D'abord, le contenu de chaque puits est éliminé pour se débarrasser des cellules bactériennes non adhérentes, ensuite, chaque puits est rincé à trois reprises avec de l'eau distillée stérile.

Les microplaques sont laissées par la suite sécher à température ambiante pendant 15 minutes après séchage.

Les puits des microplaques sont remplis avec 200 µl d'une solution de cristal violet (CV) (**Loba Chemie Pvt. Ltd, Inde**) à 0,1 % et laissés pendant 15 minutes à température ambiante. L'excès du cristal violet est éliminé, puis les microplaques sont rincées avec de l'eau distillée stérile, et laissées sécher un séchage à l'air est réalisé pendant 15 minutes.

Pour finir, les puits sont solubilisés avec 150 µl d'une solution d'acide acétique à 33 %. L'adhésion des cellules bactériennes est mesurée par l'absorbance à 596 nm (DO596) à l'aide d'un lecteur de microplaque de titration ELISA.

### **6. L'évaluation de la capacité de formation de biofilm par *Escherichia coli* sur téflon**

Des surfaces en polytétrafluoroéthylène (PTFE), ou Téflon PTFE, de dimensions 2,5 x 1 cm sont utilisées pour tester *in vitro* la capacité des souches de *Escherichia coli* à former des biofilms. Ces surfaces ont été stérilisées en autoclave à 121 °C pendant 20 minutes.

**6.1. Préparation de la suspension bactérienne :** Comme mentionné précédemment.

**6.2. Formation de biofilm :** Chaque surface de Téflon préalablement stérilisée est placée dans un tube contenant 3 ml de bouillon BHI et 1 ml de la suspension bactérienne des souches à tester. Les tubes sont ensuite incubés pendant 24 heures à 25, 30 et 40 °C.

**6.3. Dénombrement des bactéries adhérees :** Après l'incubation, chaque surface est récupérée aseptiquement puis rincée avec l'eau distillée stérile pour éliminer les cellules non adhérees. Les surfaces de téflon sont par la suite transférées dans des tubes contenant 9 ml d'eau physiologique stérile et soumis à un traitement au vortex pendant 30sec, cette étape est réalisée à trois reprises puis une série de dilution décimale allant jusqu'à 10<sup>-6</sup> est effectuée. 100 µl de chaque dilution est inoculée dans des boîtes de Pétri contenant de la Gélose Plate Count Agar PCA (Fluka), et incubée à 37°C pendant 24 h. Les résultats sont exprimés en ufc/cm<sup>2</sup> selon la formule suivante :

$$N \text{ (ufc/cm}^2\text{)} = [n \text{ v/d}]/S$$

**n :** nombre de colonie compté sur la boîte retenue ;

**d :** taux de dilution ;

**v :** volume total de la dilution qui a servi au dénombrement

**S :** surface de la lame délimitée à 5 cm<sup>2</sup>.

---

---

## **Résultats et discussion**

---

---

### 1. Observation microscopique des souches d'*Escherichia coli*

La pureté des souches d'*Escherichia coli* qui ont fait l'objet de la présente étude est vérifiée à l'aide de deux méthodes microbiologiques courantes : la croissance sur un milieu gélosé de Mac Conkey et la coloration simple par le bleu de méthylène.

### 2. Effet de la source de carbone sur la formation de biofilm par *Escherichia coli*

Cette étude avait pour but d'évaluer l'impact de différentes sources de carbone couramment rencontrées dans l'industrie laitière sur la formation de biofilms par *Escherichia coli*. À cette fin, trois types de sucres ont été sélectionnés : le glucose, le lactose et le galactose.

Afin d'atteindre notre objectif, un total de 05 concentrations est choisi à savoir 0,5, 1, 1,5, 2 et 2.5% couplés à différente durée d'incubation 24, 48 et 72h.

Les valeurs d'absorbance à 596 nm après incubation et coloration au CV indiquent la quantité de biofilm formé par les souches étudiées.

**2.1 Effet des sucres sur la souche *E.coli* lamaabe4-73 :** Pour cette souche, les résultats obtenus après 24 heures d'incubation variaient de 0.32 à 0.55nm pour les différents sucres et les différentes températures testées, alors que celle du contrôle négatif variaient entre 0.19 et 0.5nm.

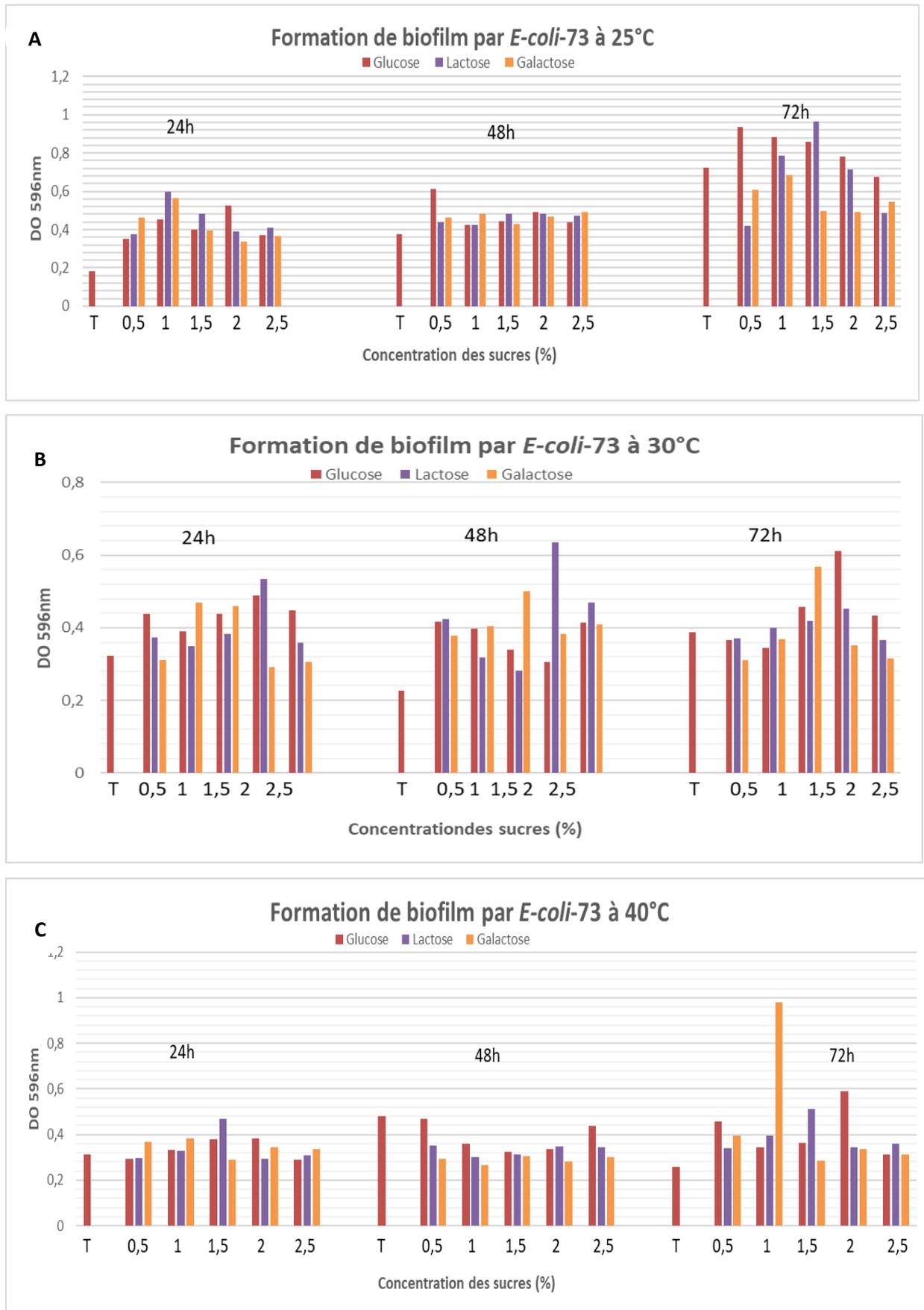
Il est important de noter que le lactose a le plus grand effet sur la formation de biofilms par *E.coli* après 24h d'incubation à 25°C (figure 6, A).

Les résultats obtenus pour la même souche après 48h d'incubation variaient entre 0.5 et 0.61nm ces valeurs étaient nettement plus élevées que celles du témoin qui variaient de 0.21 à 0.42nm. La valeur la plus élevée observée pour le lactose était de 0.63nm à une concentration de 2.5% à 30°C bien que l'ajout du glucose à 0,5% a donné une valeur de 0.6nm à 25°C. Pour l'addition galactose, la valeur la plus élevée observée était de 0.49nm à une concentration de 1.5% à 30°C (figure 6, B).

Les résultats obtenus après 72h d'incubation variaient de 0.22 à 0.96nm. La valeur la plus élevée était de 0.96nm pour les concentrations 1 et 1.5% à 25 et 40°C, respectivement pour le galactose et le lactose et 0.92nm pour le glucose à une concentration de 0.5% à 25°C (figure 6,C).

Ces données, nous révèlent une augmentation de la formation de biofilms au fil du temps et températures d'incubation, quelle que soit le sucre et la concentration testé.

## Résultats et discussion



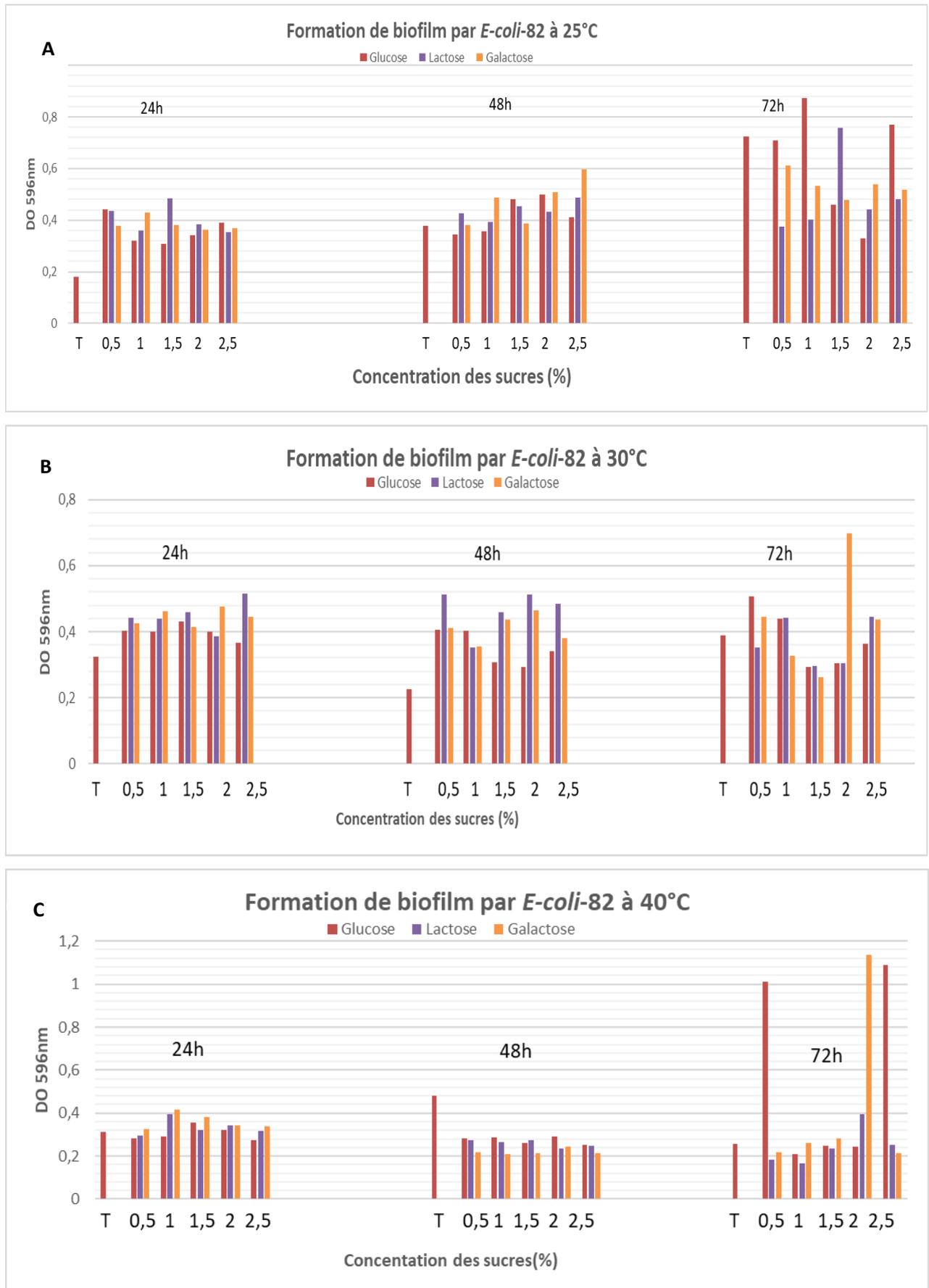
**Figure 6:** Effet de différentes sources de carbone sur la formation de biofilm par la souche *E. coli lamaabe4-73* ; (A) : 25°C, (B) : 37°C et (C) : 40°C

**2.2 Effet des sucres sur la souche *E.coli* lamaabe4-82 :** Les résultats de la souche *E.coli* lamaabe4-82 (présentés dans la figure 13) ont montré qu'après 24 heures d'incubation, les valeurs variaient de 0.27 et 0.51nm pour les différentes sources de carbone et différentes températures testées. Les valeurs du contrôle négatif étaient de 0.19 et 0.32nm.

Les résultats obtenus indiquaient que le galactose à 2% a donné la plus grande valeur après 72h d'incubation à 40°C (1.15nm). Après 48h, la grande valeur obtenue est enregistrée à 25°C lorsque le milieu est additionné de galactose à 2,5% et qui était de 0.6 nm, suivi par le lactose qui a donné une valeur de 0,51 nm à une concentration de 0,5% lorsque l'incubation a été faite à 30°C. La valeur la plus élevée pour le glucose est enregistrée à une concentration de 0.5% à 25°C.

Après 72h d'incubation, les résultats variaient de 0.26 et 1.13nm. La valeur la plus élevée était obtenue après addition du galactose à une concentration de 2% lorsque la souche était incubée 40°C (1.13nm). Lorsque la concentration du glucose est augmentée à 2.5% à 40°C une valeur de 1.08nm est obtenue alors que le lactose a donné à 1.5% à 25°C 0.79nm.

## Résultats et discussion



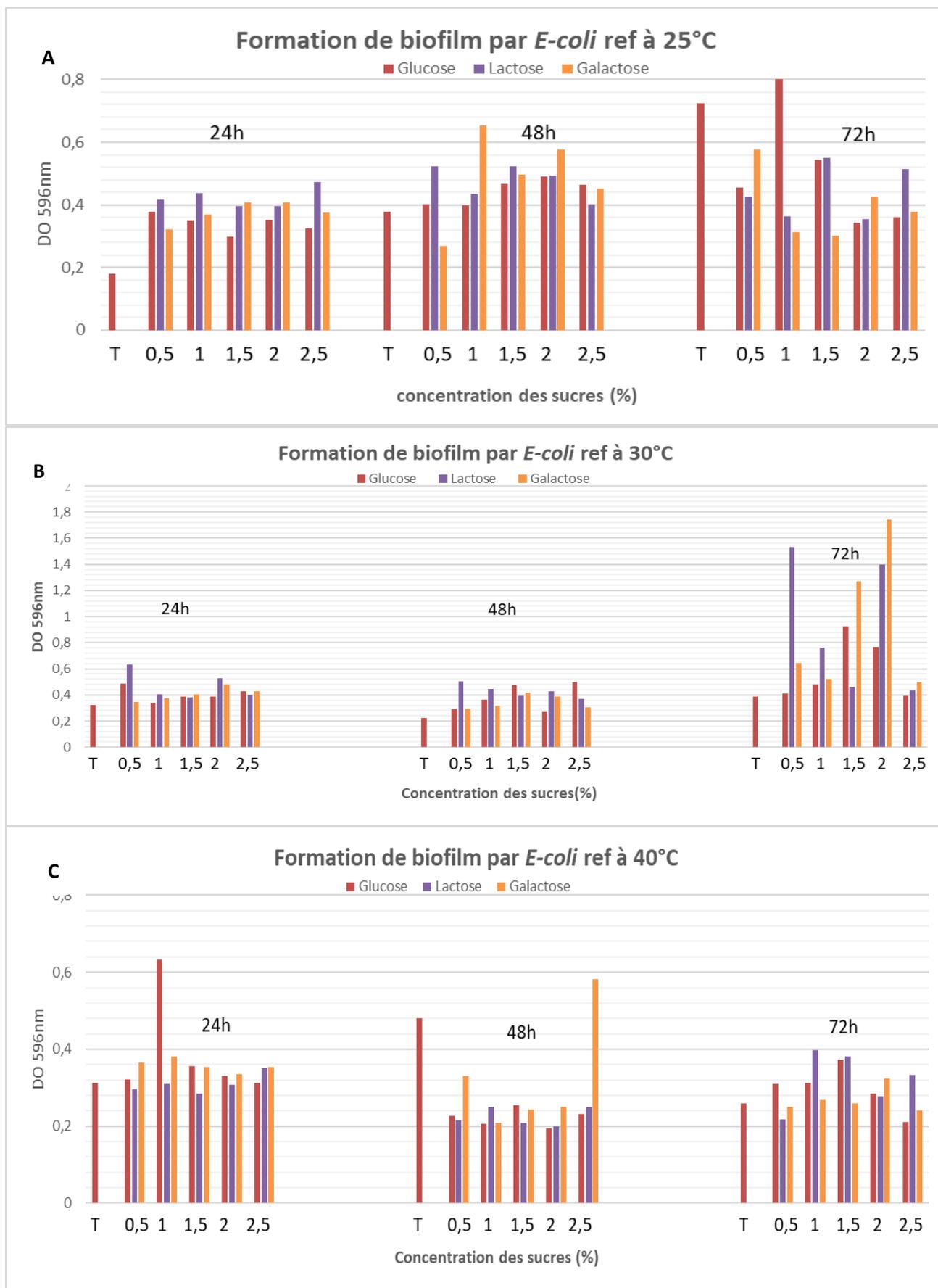
**Figure 7:** Effet de différentes sources de carbone sur la formation de biofilm par la souche *E. coli* lamaabe4-82 ; (A) : 25°C, (B) : 37°C et (C) : 40°C

**2.3 Effet des sucres sur la souche de référence *E.coli* ATCC 25922 :** Pour cette souche, les résultats obtenus après 24 heures d'incubation variaient de 0.22 et 1.77nm pour les différentes sources de carbone et différentes températures testées, alors que la valeur du contrôle négatif sans l'ajout de sucre était de 0.21 et 0.7nm.

Les résultats obtenus indiquaient que le galactose à 2% a donné la plus grande valeur après 72h d'incubation à 40°C (1.77nm).

Les résultats obtenus pour la même souche après 48h d'incubation variaient de 0.22 et 0.63nm tandis que la valeur du témoin était de 0.19 et 0.31nm La valeur la plus élevée observée pour le galactose 0.65nm à une concentration de 1% à 25°C bien que pour le lactose 0.52nm à une concentration de 0.5% à 25°C alors que pour le glucose la valeur la plus élevée est de 0.49nm à une concentration de 2% à 25°C.

Les résultats obtenus après 72h d'incubation variaient de 0.21 et 1.77nm, la valeur la plus élevée était pour le galactose 1.77nm à une concentration de 2% à 30°C et 1.54nm à une concentration de 0.5% à 30°C pour le lactose et 0.8nm à une concentration de 1 % à 25°C pour le glucose. Les résultats sont indiqués dans la figure 8.



**Figure 8:** Effet de différentes sources de carbone sur la formation de biofilm par la souche *E. coli* ATCC 25922 ; (A) : 25°C, (B) : 37°C et (C) : 40°C

### 3. Evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souches *E.coli* sur le téflon mettre le nom complet tel que je l'ai mis dans la partie méthodologie :

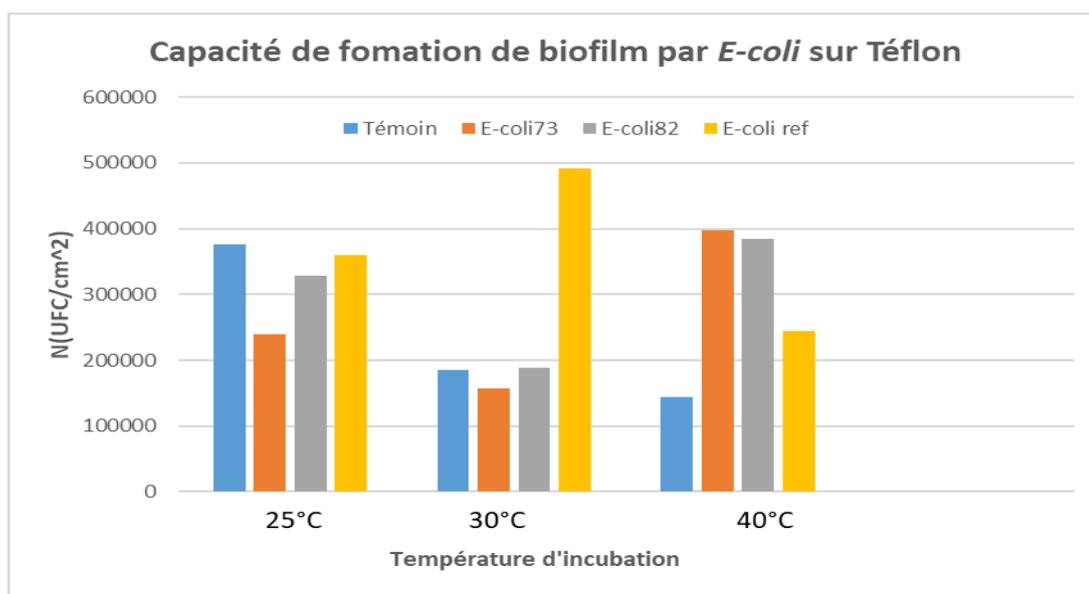
Pour évaluer la capacité de formation de biofilm par les deux souches *Escherichia coli* isolées des lignes de production de lait sur des surfaces solides, des surfaces de téflon ont été testées (figure 9).

Après 24h d'incubation, les résultats obtenus ont montré qu'à 25°C, la valeur du témoin était  $3,76.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>. La souche de référence *E.coli* ATCC 25922, le nombre de bactéries adhérees sur le téflon était de  $3,6.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>. Les deux souches le nombre de bactéries adhérees quantifié était de  $3,28.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> et  $2,4.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> pour *E.coli lamaab4-82* et *E.coli lamaabe4-73*, respectivement.

Quand la température est augmentée à 30°C pendant 24h, la quantité de biofilm formé sur le téflon était de  $4,92.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> pour la souche de référence,  $4,88.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> pour la souche *E.coli lamaab4-82* et  $3,58.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> pour *E.coli lamaabe4-73* alors que le témoin a donné  $1,86.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>.

A 40°C, pour *E.coli lamaabe4-73* la valeur obtenue était légèrement plus élevée que celle obtenues à 30°C ( $3,98.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>) tandis que pour *E.coli lamaab4-82* la valeur obtenue était inférieure à celle obtenus à 30°C et supérieure à celle de 24h ( $3,84.10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>).

Les résultats obtenus ont indiqués que les souches d'*Escherichia coli* testées ont une capacité à former le biofilm sur des surfaces en téflon mais avec des capacités variables en fonction de la température d'incubation.



**Figure 9:** Evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souches d'*E. coli* sur le téflon

#### 4. Discussion

Les biofilms sont des communautés complexes de micro-organismes, principalement des bactéries, qui adhèrent à des surfaces et produisent une matrice extracellulaire composée de polymères organiques.

L'industrie laitière est particulièrement vulnérable aux biofilms en raison de la nature nutritive des produits laitiers, qui favorise la croissance microbienne. Les biofilms peuvent se former dans les réservoirs de stockage de lait, les conduites de transfert, les pasteurisateurs, et les autres équipements de production. Les conséquences peuvent inclure la contamination des produits laitiers, réduisant leur durée de conservation, et potentiellement causant des maladies chez les consommateurs (Marchand *et al.*, 2012).

De nombreux facteurs peuvent influencer la formation de biofilms dans l'industrie alimentaire, tels que la composition du milieu de croissance et la durée d'incubation (Kwon *et al.*, 2017). Les biofilms ont un impact considérable sur la sécurité dans l'industrie alimentaire. Les surfaces industrielles humides et la présence de nutriments créent des conditions idéales pour le développement de biofilms sur les équipements de production alimentaire (Kilić, 2020).

La formation de biofilms par *Escherichia coli* dans l'industrie laitière est un défi majeur en raison de son impact sur la sécurité alimentaire et la qualité des produits. Les biofilms protègent les bactéries des conditions environnementales défavorables et des agents antimicrobiens, compliquant le contrôle des contaminations.

Pour étudier l'effet des sources de carbone sur la formation de biofilms chez *Escherichia coli*, trois types de sucres ont été testés à différentes concentrations sur trois durées d'incubation. La densité optique à 596 nm du colorant CV lié aux biofilms a été mesurée.

Les résultats de cette étude indiquent clairement que la concentration optimale pour la formation de biofilms par *E.coli* était de 2 % pour le galactose.

Selon Ahmed et Kaur (2021), la formation de biofilm par *E. coli* en présence de glucose à 25°C est modérée après 24 heures, avec une augmentation progressive à 48 et 72 heures. Cette température plus basse ralentit le métabolisme bactérien, ce qui peut expliquer la croissance progressive des biofilms. Une étude récente réalisée par Kim et Woo (2022) a montré que le glucose induit une formation rapide et dense de biofilm à une température de 30°C, avec une augmentation significative à 24 heures et un pic à 48 et 72 heures. À 30°C, la température est proche de l'optimum pour de nombreuses souches d'*E. coli*, favorisant ainsi une croissance et une adhésion rapides. En 2023, Zhao et Gao (2023) ont observé que la formation de biofilm atteint son maximum plus rapidement à 37°C, souvent dès 24 heures, avec une stabilisation à 48 et 72 heures.

À des températures plus élevées comme 40°C, le métabolisme des bactéries est souvent altéré, ce qui peut affecter la formation de biofilms. Cependant, certaines études montrent que les bactéries peuvent encore former des biofilms dans des conditions stressantes. *E. coli* continue de former des biofilms, mais ceux-ci peuvent être moins denses qu'à 37°C. Selon une étude de Zhang *et al.*, (2021), la formation de biofilm en présence de glucose à 40°C est initialement rapide, atteignant un pic à 24-48 heures, puis diminuant légèrement à 72 heures en raison du stress thermique. Les cellules bactériennes peuvent entrer en phase de stress, limitant leur capacité à maintenir une structure de biofilm dense sur une période prolongée.

Une comparaison des études de Voronkova et Shevchenko, ainsi que de Vashchenko *et al.*, sur l'effet des sucres sur la formation de biofilms par les souches de *S. aureus* et *S. epidermidis* révèle des similarités. Il a été observé que des concentrations de sucre de 2,5 % ou plus ont un effet inhibiteur marqué sur la formation de biofilms, tandis que des concentrations de 0,5 % ont un effet presque neutre. De plus, la présence de glucose stimule la formation de biofilms, tandis que l'ajout de lactose et de galactose a un effet négatif (Vashchenko *et al.*, 2021 ; Voronkova et Shevchenko, 2017).

Une étude réalisée par Mirkar et son équipe (2016) visait à examiner l'impact du glucose sur la formation de biofilms par *K. pneumoniae* en utilisant des concentrations de 2%, 4%, 6%, 8% et 10%. Les résultats ont montré qu'une augmentation de la concentration de glucose favorisait de manière significative la formation de biofilms de *K. pneumoniae*. Cependant, au-delà d'une concentration de 8 %, une diminution de la formation de biofilms a été observée (Mirkar *et al.*, 2016).

La température d'incubation peut impacter divers aspects qui influent sur l'attachement cellulaire et la formation de biofilm, incluant la physiologie cellulaire, les caractéristiques de la surface cellulaire, la solubilité des composants/nutriments alimentaires, ainsi que les propriétés des polysaccharides extracellulaires. Cependant, la réponse à ces variations est spécifique à chaque espèce (Yin *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2016 ; Pagán et García-Gonzalo, 2015 ; Karaca *et al.*, 2013).

Singh et Verma (2021) ont noté que la formation de biofilm en présence de galactose est plus lente à 25°C, avec des niveaux modérés observés à 48 et 72 heures. La capacité d'*E. coli* à utiliser le galactose comme source d'énergie peut être moins efficace à cette température.

Alors que Patel et Singh (2022) ont rapporté que la formation significative de biofilm après 48 heures à 30°C, atteignant un pic à 72 heures. À cette température, le galactose devient une source d'énergie plus favorable pour les bactéries, entraînant une meilleure formation de biofilm.

Après une étude réalisé en 2020, Li et Chen (2020) ont constaté que les biofilms se forment plus rapidement en présence de galactose à 37°C, mais souvent moins denses que ceux formés avec du glucose. La température optimale favorise le métabolisme, mais les différences dans l'utilisation des sucres influencent l'adhésion et la croissance du biofilm. Tandis que Chauhan et Gupta (2021) ont indiqué que la formation de biofilm par *E. coli* en présence de galactose à 40°C est plus lente que celle observée avec le glucose, avec un pic à environ 48 heures, suivi d'une stabilisation ou d'une légère diminution à 72 heures. Le galactose peut être moins efficace que le glucose comme source d'énergie à cette température, entraînant une formation de biofilm plus limitée.

Il a été constaté que chaque sucre avait des valeurs élevées à différents durée d'incubation selon les souches étudiées. Cependant, le lactose a montré une influence plus marquée sur la formation de biofilm que le glucose et le galactose après 24 heures d'incubation.

Ces résultats suggèrent que les sucres utilisés comme sources de carbone favorisent la formation de biofilms par les souches étudiées.

Chauhan et Gupta (2021) ont observé que le lactose induit une formation de biofilm par *E.coli* modérée après 24 heures lorsque la température d'incubation est de 25°C, avec une augmentation notable à 48 et 72 heures. La double décomposition du lactose en glucose et galactose peut ralentir initialement la formation de biofilm.

Les résultats obtenus par Huang et Lee (2023) ont montré qu'à 30°C, une formation de biofilm plus importante est observée dès 24 heures, avec un pic à 48 heures et une stabilisation à 72 heures. Cette température favorise la métabolisation rapide du lactose en ses composants plus simples, stimulant la formation de biofilm par *E.coli*.

Des résultats antérieurs ont montré que l'adhésion initiale de *Pseudomonas sp.* peut être favorisée par un faible niveau de nutriments dû à une augmentation de l'hydrophobie de la surface bactérienne (Chen *et al.*, 2005).

Buhler et ses collaborateurs (1998) ont vérifié que l'augmentation de la concentration en nutriments favorisait la croissance du biofilm d'*E. coli* et d'autres groupes ont obtenu des résultats similaires avec *P. aeruginosa* dans des réacteurs annulaires (Buhler *et al.*, 1998). D'autre part, il a été vérifié qu'une augmentation de la concentration en nutriments peut entraîner un détachement cellulaire de *P. putida* dans les Flow Cells (Rochex et Lebeault, 2007).

Le lactose, un disaccharide nécessitant une hydrolyse préalable en glucose et galactose, présente des défis uniques à des températures élevées. À 40°C, la formation de biofilm en présence de lactose est modérée, avec une augmentation progressive à 24 et 48 heures, atteignant un plateau ou une légère diminution à 72 heures. Selon Huang et Lee (2023), les biofilms formés en présence de lactose à 40°C sont généralement moins denses que ceux formés à des températures plus basses, en raison de l'instabilité thermique et de l'efficacité réduite de l'hydrolyse du lactose sous stress thermique.

Les résultats montrent que le type de substrat carboné (glucose, galactose et lactose), la température (25°C, 30°C et 40°C) et la durée d'incubation (24, 48, 72 heures) influencent la formation de biofilms par *E. coli*. Le glucose favorise une formation rapide et dense de biofilms, surtout à des températures voisine d'optimales. Le galactose induit une formation de biofilm plus lente, tandis que le lactose montre des effets intermédiaires en raison de sa nécessité de

décomposition. À 40°C, la formation de biofilms par *E. coli* en présence de glucose, galactose et lactose est globalement moins dense. Le glucose reste le substrat favorisant la formation la plus rapide et la plus dense de biofilms, suivi par le galactose et le lactose. Ces informations sont cruciales pour l'industrie laitière afin de développer des stratégies efficaces pour prévenir et contrôler la formation de biofilms dans des conditions de température élevées.

Le Téflon, un matériau largement utilisé pour ses propriétés antiadhésives et sa résistance chimique, est couramment employé dans l'industrie laitière. Comprendre son effet sur la formation de biofilms par *Escherichia coli* à différentes températures est essentiel pour améliorer les protocoles de nettoyage et de désinfection, assurant ainsi une meilleure sécurité alimentaire et qualité des produits.

À 25°C, les biofilms formés par *E. coli* sont généralement moins denses comparés à des températures plus élevées en raison du métabolisme bactérien plus lent.

Selon Li et al. (2022), le Téflon réduit significativement l'adhésion initiale des cellules bactériennes, retardant ainsi la formation de biofilms par *E. coli*. A 25°C, après 24 heures, une faible formation de biofilm est observée, et cette tendance se poursuit à 48 et 72 heures. La surface antiadhésive du Téflon complique l'ancrage des cellules bactériennes, limitant leur capacité à former des biofilms denses.

Lorsque la température était de 30°C, une température optimale pour la croissance de nombreuses souches d'*E.coli*, la capacité de formation de biofilm sur le Téflon est mise à l'épreuve. Selon Singh et Verma (2023), le Téflon reste efficace pour réduire la formation de biofilms même à cette température optimale. La formation de biofilms sur les surfaces en Téflon est significativement réduite après 24 heures, avec seulement une légère augmentation à 48 et 72 heures. Les propriétés antiadhésives du Téflon réduisent l'adhésion cellulaire et la maturation des biofilms, même dans des conditions de croissance optimales.

Chauhan et Gupta (2024) ont observé que, malgré le stress thermique, le Téflon continue d'entraver efficacement la formation de biofilms par *E. coli*. Après 24 heures à 40°C, la formation de biofilms est minimale, avec une légère augmentation à 48 et 72 heures. La combinaison des effets antiadhésifs du Téflon et du stress thermique limite la capacité des bactéries à former des biofilms denses et persistants.

## Résultats et discussion

---

Le Téflon s'avère être un matériau efficace pour réduire la formation de biofilms par *E. coli* dans l'industrie laitière, à des températures variées (25°C, 30°C et 40°C). Ses propriétés antiadhésives et sa résistance chimique en font un choix idéal pour les surfaces en contact avec des produits laitiers, améliorant ainsi les protocoles de nettoyage et de désinfection. Ces résultats soulignent l'importance de sélectionner des matériaux appropriés pour minimiser les risques de contamination microbologique dans les environnements de production alimentaire.

---

---

# **Conclusion**

---

---

## Conclusion

---

Le biofilm est une communauté microbienne hautement structurée qui se forme sur diverses surfaces en industries alimentaires. Il constitue une source persistante de contamination, menaçant l'industrie alimentaire, y compris le secteur laitier. La présence de biofilms sur les surfaces en contact avec les aliments entraîne de graves conséquences économiques. Ces biofilms peuvent contenir des bactéries pathogènes ou de détérioration, altérant les propriétés organoleptiques et sensorielles des produits laitiers, réduisant leur durée de vie, et pouvant transmettre des maladies d'origine alimentaire. Plusieurs facteurs influencent la formation de biofilms. Parmi ces facteurs, la source de carbone, la température et le temps de contact sont particulièrement importants pour la croissance bactérienne et le développement des biofilms.

*Escherichia coli* est un bacille à Gram négatif connu pour faire partie de la flore intestinale normale mais peut également être à l'origine de maladies intestinales et extra-intestinales chez l'homme.

L'objectif de notre étude était d'étudier l'impact de certains facteurs environnementaux incluant la source de carbone, la température, le type de surface et le temps de contact sur la formation de biofilm par *Escherichia coli*, isolée à partir des lignes de post-pasteurisation de production de lait cru.

Nos résultats révèlent que ces paramètres peuvent fortement influencer la formation de biofilms par *E.coli*. Les valeurs obtenues indiquent que certaines combinaisons de sucres, de températures et de temps d'incubation favorisent particulièrement la formation de biofilms par les souches d'*E.coli* étudiées, soulignant la nécessité d'un contrôle rigoureux de ces paramètres dans les environnements de production laitière tout pour réduire le risque de contamination par *E. coli* ainsi que d'autres pathogènes.

Comprendre et ajuster ces paramètres est crucial pour optimiser et/ou mettre en œuvre des stratégies de lutte contre ces biofilms menaçant un tel secteur. De plus, des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre le phénomène de formation de biofilms dans les industries laitières. Ces études doivent combiner plusieurs paramètres, notamment le pH, la composition du lait, la rugosité des surfaces, l'effet des fluides, et la composition variable des microflore bactériennes du lait, afin de reproduire fidèlement le microenvironnement des lignes de production laitière. Cela permettra une amélioration de la gestion des risques

## Conclusion

---

microbiologiques, garantissant ainsi la sécurité et la qualité des produits alimentaires et renforcera la confiance des consommateurs.

---

---

# **Références bibliographiques**

---

---

## Références bibliographiques

---

- 1 Boutaleb N.(2007). Etude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thèse de doctorat : Université de Bretagne Sud UFR science et science de l'ingénieur.194 -195.
- **Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., & Chihib, N. E. (2014).** Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of microbiology*, 196(7), 453–472.
- **Abdulhaq, N., Nawaz, Z., Zahoor, M. A., & Siddique, A. B. (2020).** Association of biofilm formation with multi drug resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *EXCLI journal*, 19, 201–208.
- **Ahmed, N., & Kaur, S. (2021).** Biofilm Formation by E. coli in Dairy Environments:Role of Galactose. *Journal of Dairy Science*.
- **Alix Pantel.** Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez Escherichia coli ST131. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2015.
- **Astha Agarwal, Kaleshwar Prasad Singh, Amita Jain,** Signification médicale et gestion du biofilm staphylococcique, *FEMS Immunology & Medical Microbiology* , volume 58, numéro 2, mars 2010, pages 147-160.
- **Bagge D., M. Hjelm, C. Johansen, I. Huber, L. Gram. 2001.** Shewanella putrefaciens Adhesion and Biofilm Formation on Food Processing Surfaces. *Applied and environmental microbiology.*, 67: 2319– 2325.
- **Bedrane R.,Delleci H., Labaci A ., Kahloul K (2020)** Antibiorésistance des souches d'Escherichia coli chez les patients hospitalisés au niveau du service de réanimation polyvalente du CHU Nedir Mohamed Tizi-Ouzou –Unité Balloua 113 P.
- **Bendinger B., Rijnaarts H. H., Altendorf K., Zehnder A. J. (2003).** Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Applied and environmental microbiology*. 59(11): 3973-3977.
- **Bey F. (2009).** Etude de l'interaction antagoniste entre Lactobacillus sp et quelques souches d'entérobactéries. Mémoire. Université d'Oran Es-Senia. 109 P.

## Références bibliographiques

---

- **Bremer P, Seale B, Flint S, Palmer J.** Biofilms in dairy processing. In: Fratamico PM, Annous BA, Gunther NW IV, editors. *Biofilms in the food and beverage industries*. Sawston (UK): Woodhead Publishing. 2009; p. 396–431.
- **Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021).** Microbial Biofilms in the Food Industry-A Comprehensive Review. *International journal of environmental research and public health*, 18(4), 2014
- **Chalvet de Rochemonteix A. (2009).** Les biofilms et la peau. Thèse Pour le Doctorat vétérinaire. École Nationale Vétérinaire D'alfort Paris.
- **Characklis, W. G., et K. Marshall. 1990.** Biofilms :Une base pour une approche interdisciplinaire. En W. G. Characklis et K. Marshall (Eds.) *Biofilms*. John Wiley et fils. Nouvelle york, New York. 3-15.
- **Chauhan, A., & Gupta, R. (2021).** Influence of Galactose on Biofilm Formation under Thermal Stress. *International Dairy Journal*.
- **Chauhan, A., & Gupta, R. (2021).** Lactose Metabolism and Biofilm Formation in Dairy *E. coli*. *Food Control*.
- **Chauhan, A., & Gupta, R. (2024).** Effect of Thermal Stress and Antiadhesive Surfaces on Biofilm Dynamics of *E. coli*. *Food Control*.
- **Cherif-Antar, A., Moussa–Boudjemâa, B., Didouh, N., Medjahdi, K., Mayo, B., & Flórez, A. B. (2016).** Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant. *Dairy science & technology*, vol. 96, pp. 27-38.
- **Clutterbuck, A. L., Woods, E. J., Knottenbelt, D. C., Clegg, P. D., Cochrane, C. A., & Percival, S. L. (2007).** Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary microbiology*, 121(1-2), 1–17.
- **Costerton, J. W., Geesey, G. G., & Cheng, K. J. (1978).** How bacteria stick. *Scientific American*, 238(1), 86–95.
- **Denis F. ; Ploy C. M.; Martin C.; Bingen E. et Quentin R. (2007).** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Ed. Elsevier Masson SAS. 335-401p.

- **Díaz, E., Ferrández, A., Prieto, M. A., & García, J. L. (2001).** Biodegradation of aromatic compounds by *Escherichia coli*. *Microbiology and molecular biology reviews* : *MMBR*, 65(4), 523–569.
- **Donlan R. M. (2002).** Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881–890.
- **Dumas C. 2007.** Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Thèse de Doctorat. Institut National polytechnique de Toulouse. 306 pages.
- **Dwivedi, D. et Sehgal, T. (2022).** Développement de biofilm dans les bactéries Gram-positives et Gram-négatives. IntechOpen. est ce que je: 10.5772/intechopen.104407
- **Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010).** The biofilm matrix. *Nature reviews. Microbiology*, 8(9), 623–633.
- **Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016).** Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature reviews. Microbiology*, 14(9), 563–575.
- **Garcia-Sanchez L, Melero B, Jaime I, Rossi M, Ortega I, Rovira J. 2019.** Formation de biofilm, virulence et résistance aux antimicrobiens de différents isolats de *Campylobacter jejuni* provenant d'un abattoir de volailles . *Microbiol alimentaire* . 83 : 193-199.
- **Garrett, TR, Bhakoo, M. et Zhang, Z. (2008).** Adhésion bactérienne et biofilms sur les surfaces. *Progress des sciences naturelles* , 18 (9), 1049-1056.
- **Gauthier, V. (1998)** Les particules dans les réseaux de distribution d'eau potable, caractérisation et impact sur la qualité de l'eau distribuée. Doctorat Thèse of Université Henri-Poincaré/Nancy I, Nancy, France, 190 p
- **Goetz, C., Larouche, J., Velez Aristizabal, M., Niboucha, N., & Jean, J. (2022).** Efficacy of Organic Peroxyacids for Eliminating Biofilm Preformed by Microorganisms Isolated from Dairy Processing Plants. *Applied and environmental microbiology*, 88(4), e0188921.

## Références bibliographiques

---

- **Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004).** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews. Microbiology*, 2(2), 95–108.
- **Haras, D. (2005).** Biofilms et altérations des matériaux: de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Matériaux & Techniques*, 93, s-27.
- **Hart T., Shears P. (1999).** Atlas de poche de microbiologie. Flammarion MédecineScience. Paris. 118 p
- **Henrici A. T. (1933).** Studies of Freshwater Bacteria: I. A Direct Microscopic Technique. *Journal of bacteriology*, 25(3), 277–287. <https://doi.org/10.1128/jb.25.3.277-287.1933>
- **Høiby N. (2017).** A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 125(4).
- **Huang, R., & Lee, K. (2023).** Biofilm Formation by E. coli in the Presence of Lactose at Elevated Temperatures. *Food Microbiology*.
- **Huang, R., & Lee, K. (2023).** Influence of Lactose on Biofilm Production by Dairy E.coli Strains. *Journal of Food Protection*.
- **Ishii, S., Ksoll, WB, Hicks, RE et Sadowsky, MJ (2006)** Présence et croissance d'*Escherichia coli* naturalisée dans les sols tempérés des bassins versants du lac Supérieur. *Appl Environ Microbiol* 72, 612 – 621.
- **Ishii, S., Yan, T., Vu, H., Hansen, DL, Hicks, RE et Sadowsky, MJ (2010)** Facteurs contrôlant la survie et la croissance à long terme des populations naturalisées d'*Escherichia coli* dans les sols tempérés. *Microbes Environ* 25, 8 – 14.
- **Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017).** Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *Journal of applied microbiology*, 123(3), 570–581.
- **Joly B., Reynaud A., (2002).** Entérobactéries: systématique et méthodes de diagnostic. Edition TEC et DOC. Lavoisier. Chapitre 2. P: 28-31.

- **Kilić T. (2020).** Biofilm-Forming Ability and Effect of Sanitation Agents on Biofilm-Control of Thermophile *Geobacillus* sp. D413 and *Geobacillus toebii* E134. *Polish journal of microbiology*, 69(4), 411–419.
- **Kim, S., & Woo, J. (2022).** Impact of Glucose on Biofilm Formation in Dairy Production Environments. *Journal of Food Science and Technology*.
- **Kumar, C. G., & Anand, S. K. (1998).** Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International journal of food microbiology*, 42(1-2), 9–27.
- **Kumari, S., & Sarkar, P. K. (2018).** Optimisation of *Bacillus cereus* biofilm removal in the dairy industry using an in vitro model of cleaning-in-place incorporating serine protease. *International journal of dairy technology*, 71(2), 512-518.
- **Lerminiaux NA, Cameron ADS** Transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques en milieu clinique. *Peut. J. Microbiol.* 2019 ; 65 : 34–44. est ce que je : 10.1139/cjm-2018-0275.
- **Li, W., & Chen, Y. (2020).** Galactose Utilization and Biofilm Formation in *E. coli*. *Food Microbiology*.
- **Li, W., & Chen, Y. (2022).** Impact of Antiadhesive Surfaces on Biofilm Formation by *E. coli* in Dairy Production. *Journal of Food Protection*.
- **Li, X., Gu, N., Huang, T. Y., Zhong, F., & Peng, G. (2023).** *Pseudomonas aeruginosa*: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. *Frontiers in microbiology*, 13, 1114199.
- **Liesse Iyamba, J.-M. (2012).** Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique.
- **Lila, ASA ; Rajab, AAH; Abdallah, MH; Rizvi, SMD ; Moin, A. ; Khafagy, E.-S.; Tabrez, S. ; Hegazy, WAH** Biofilm Lifestyle dans les infections récurrentes des voies urinaires. *Vie* 2023 , 13 , 148.
- **Liu, C. M., Aziz, M., Park, D. E., Wu, Z., Stegger, M., Li, M., Wang, Y., Schmidlin, K., Johnson, T. J., Koch, B. J., Hungate, B. A., Nordstrom, L., Gauld, L., Weaver, B., Rolland, D., Statham, S., Hall, B., Sariya, S., Davis, G. S., Keim, P. S., ... Price,**

- L. B. (2023).** Using source-associated mobile genetic elements to identify zoonotic extraintestinal *E. coli* infections. *One health (Amsterdam, Netherlands)*, 16, 100518.
- **Marchand, S., Block, J. d., De Jonghe, V., Coorevits, A., Heyndrickx, M., & Herman, L. (2012).** Biofilm formation in milk production and processing environments; influence on milk quality and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 133-147.
  - **Marchand, S., De Block, J., De Jonghe, V., Coorevits, A., Heyndrickx, M., & Herman, L. (2012).** Biofilm formation in milk production and processing environments; influence on milk quality and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 11(2), pp. 133-147.
  - **Massot, M., Picard, B., & Denamur, E. (2016).** Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(486), 35-43.
  - **Mogha, K. V., Shah, N. P., Prajapati, J. B., & Chaudhari, A. R. (2014).** Biofilm-A threat to dairy industry. *Indian J. Dairy Sci*, vol. 67(6), pp. 459-466.
  - **Ng CG, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J, Ho B. 2017.** La formation de biofilm améliore la capacité de survie d'*Helicobacter pylori* dans les légumes. *Microbiol alimentaire*. 62 : 68-76.
  - **Olanbiwoninu, A. A., & Popoola, B. M. (2023).** Biofilms and their impact on the food industry. *Saudi journal of biological sciences*, 30(2), 103523.
  - **Patel, J., & Singh, P. (2022).** Comparative Analysis of Biofilm Formation with Different Sugars at Human Body Temperature. *Applied Microbiology*.
  - **Perrin, C., et coll. (2009)** Le nickel favorise la formation de biofilm par les souches d'*Escherichia coli* K-12 qui produisent du Curli. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 75, 1723-1733.
  - **Rajitha, K., Nancharaiah, Y. V., & Venugopalan, V. P. (2021).** Temperature induced amyloid production, biofilm formation and fitness in marine *Bacillus* sp. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 161, 105229.

- **Rather, M. A., Gupta, K., & Mandal, M. (2021).** Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 52(4), 1701–1718.
- **Ripolles-Avila C, Garcia-Hernandez N, Cervantes-Huaman BH, Mazaheri T, Rodriguez-Jerez JJ. 2019.** Étude quantitative et compositionnelle des biofilms monospécifiques de micro-organismes d'altération dans l'industrie de la viande et de leur interaction dans le développement de biofilms multispécifiques . *Microorganismes* . 7 ( 12 ):655.
- **Ruiz, N., & Silhavy, T. J. (2022).** How Escherichia coli Became the Flagship Bacterium of Molecular Biology. *Journal of bacteriology*, 204(9), e0023022.
- **Sauer, K., Camper, A. K., Ehrlich, G. D., Costerton, J. W., & Davies, D. G. (2002).** Pseudomonas aeruginosa displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of bacteriology*, 184(4), 1140–1154.
- **Sharma, G., Sharma, S., Sharma, P., Chandola, D., Dang, S., Gupta, S., & Gabrani, R. (2016).** Escherichia coli biofilm: development and therapeutic strategies. *Journal of applied microbiology*, 121(2), 309–319.
- **Singh, R., & Verma, H. (2021).** Temperature-Dependent Biofilm Formation by E. coli in Presence of Various Sugars. *International Dairy Journal*.
- **Singh, R., & Verma, H. (2023).** Inhibition of Biofilm Formation on Teflon Surfaces at Different Temperatures. *International Dairy Journal*.
- **Speranza, B., & Corbo, M.R. (2017).** The impact of Biofilm on Food Spoilage. The Microbiological Quality of Food, pp. 259-282.
- **Spormann A. M. (2008).** Physiology of microbes in biofilms. *Current topics in microbiology and immunology*, 322, 17–36.
- **Sternisa M, Klancnik A, Smole Mozina S. 2019.** Détérioration du biofilm *Pseudomonas* avec protection contre *Escherichia coli* dans la chair de poisson à 5 °C . *J Sci Alimentaire Agric* . 99 ( 10 ): 4635-4641.

- **Straley, B. A., Donaldson, S. C., Hedge, N. V., Sawant, A. A., Srinivasan, V., Oliver, S. P., & Jayarao, B. M. (2006).** Public health significance of antimicrobial-resistant gram-negative bacteria in raw bulk tank milk. *Foodborne Pathogens & Disease*, 3(3), 222-233.
- **Tatini SR, Kauppi KL (2002).** A faster and more economical alternative to the standard plate count method for microbiological analyses of raw milk. *Commun Curr Res Educ Topics Trends Appl Microbiol*, 19:397- 405
- **Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010).** The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nature reviews. Microbiology*, 8(3), 207–217.
- **Tomé AR, Carvalho FM, Teixeira-Santos R, Burmølle M, Mergulhão FJM, Gomes LC.** Utilisation de probiotiques pour contrôler la formation de biofilms dans les industries alimentaires. *Antibiotiques* . 2023 ; 12(4):754.
- **van den Bogaard, A. E., & Stobberingh, E. E. (1999).** Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. *Drugs*, 58(4), 589–607.
- **van Elsas, J. D., Semenov, A. V., Costa, R., & Trevors, J. T. (2011).** Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *The ISME journal*, 5(2), 173–183.
- **van Loosdrecht, M. C., Lyklema, J., Norde, W., & Zehnder, A. J. (1990).** Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiological reviews*, 54(1), 75–87.
- **Wang, H., Chen, C., Yang, E., Tu, Z., Liang, J., Dai, X., & Chen, H. (2022).** Revealing the effect of biofilm formation in partial nitrification-anammox systems: Start-up, performance stability, and recovery. *Bioresource technology*, 357, 127379.
- **Yaron S, Römling U. 2014.** Formation de biofilm par des agents pathogènes entériques et son rôle dans la colonisation et la persistance des plantes . *Biotechnologie microbienne* . 7 ( 6 ): 496-516.
- **Yin, W., Xu, S., Wang, Y., Zhang, Y., Chou, S. H., Galperin, M. Y., & He, J. (2021).** Ways to control harmful biofilms: prevention, inhibition, and eradication. *Critical reviews in microbiology*, 47(1), 57–78.

## Références bibliographiques

---

- **Yuan, L., Sadiq, FA, Wang, N., Yang, Z. et He, G. (2020).** Progrès récents dans la compréhension du contrôle des biofilms résistants aux désinfectants par la technologie des obstacles dans l'industrie alimentaire. *Revue critiques en science alimentaire et nutrition* , 61 (22), 3876-3891.
- **Zhang, T., & Wang, X. (2021).** Temperature Stress and Biofilm Formation in *E. coli*. *Journal of Applied Microbiology*.
- **Zhang, T., & Wang, X. (2022).** Role of Lactose in Biofilm Dynamics of *E. coli* at Different Temperatures. *Microbial Pathogenesis*.
- **Zhao, X., & Gao, L. (2023).** Effect of Temperature on *E. coli* Biofilm Development with Glucose. *Microbial Ecology*.
- **Zheng J., Shang Y., Wu Y., Wu J., Chen J., Wang Z. et al. (2021).** Le diclazuril inhibe la formation de biofilm et l'hémolyse de *Staphylococcus aureus* . *Infection par le SCA. Dis.*
- **Zhou, F., Wang, D., Hu, J., Zhang, Y., Tan, B. K., & Lin, S. (2022).** Control Measurements of *Escherichia coli* Biofilm: A Review. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(16), 2469.

## Résumé

Le biofilm est une association de micro-organismes liés de manière irréversible à une surface, contenue dans une matrice de substance polymère extracellulaire, ce qui constitue un formidable défi pour les industries agroalimentaires. Cette étude se focalise sur l'impact de certains facteurs environnementaux incluant la source de carbone, la température, le type de surface et le temps de contact sur la formation de biofilms dans l'industrie laitière. L'objectif était d'évaluer la capacité de trois souches d'*Escherichia coli* isolées des lignes de post-pasteurisation du lait cru à former des biofilms en présence de différents sucres (lactose, glucose et galactose). La méthodologie comprenait l'incubation des souches avec différentes concentrations de sucres (0.5, 1, 1.5, 2 et 2.5%) et l'évaluation de la formation de biofilms à des intervalles de temps (24, 48 et 72h) et température spécifiques (25, 30 et 40°C) et selon le type de surfaces (téflon). Les résultats montrent que les sucres ont des effets variables sur la formation de biofilms, en fonction de la souche, la température et de la durée d'incubation. Le galactose a favorisé une formation initiale élevée de biofilms avec une valeur de 1.74nm, suivi par le lactose 1.53nm et le glucose 1.08nm. En conclusion, cette étude souligne l'importance de prendre en compte les sources de carbone dans l'industrie laitière, car elles influencent la formation de biofilms. Comprendre ces interactions permettra de développer des stratégies de contrôle pour maintenir la qualité et la sécurité alimentaire dans cette industrie.

**Mots clés :** Biofilm, *Escherichia coli*, température, source de carbone, temps, téflon, l'industrie laitière.

## Abstract

Biofilm is an association of microorganisms irreversibly attached to a surface, contained within a matrix of extracellular polymer substance, which poses a formidable challenge for the food industry. This study focuses on the impact of certain environmental factors including carbon source, temperature, surface type, and contact time on biofilm formation in the dairy industry. The objective was to evaluate the ability of three strains of *Escherichia coli* isolated from post-pasteurization lines of raw milk to form biofilms in the presence of different sugars (lactose, glucose, and galactose). The methodology included incubating the strains with different sugar concentrations (0.5, 1, 1.5, 2, and 2.5%) and evaluating biofilm formation at specific time intervals (24, 48, and 72h) and temperatures (25, 30, and 40°C) and on specific surfaces (Teflon). The results show that sugars have varying effects on biofilm formation, depending on the strain, temperature, and incubation duration. Galactose promoted high initial biofilm formation with a value of 1.74nm, followed by lactose at 1.53nm and glucose at 1.08nm. In conclusion, this study highlights the importance of considering carbon sources in the dairy industry, as they influence biofilm formation. Understanding these interactions will help develop control strategies to maintain food quality and safety in this industry.

**Keywords:** Biofilm, *Escherichia coli*, temperature, carbon source, time, Teflon, dairy industry.

## ملخص

البايوفيلم هو ارتباط للكائنات الدقيقة المرتبطة بشكل لا رجعة فيه بسطح ما، محتواة في مصفوفة من المواد البوليمرية خارج الخلية، مما يشكل تحديًا كبيرًا لصناعة الأغذية. تركز هذه الدراسة على تأثير بعض العوامل البيئية بما في ذلك مصدر الكربون، ودرجة الحرارة، ونوع السطح، ووقت التلامس على تكوين البايوفيلم في صناعة الألبان. كان الهدف هو تقييم قدرة ثلاث سلالات من الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*) المعزولة من خطوط ما بعد البسترة للحليب الخام على تكوين البايوفيلم في وجود سكريات مختلفة (اللاكتوز، الجلوكوز والجالاكتوز). شملت المنهجية تحضين السلالات مع تركيزات مختلفة من السكريات (0.5، 1، 1.5، 2 و 2.5%) وتقييم تكوين البايوفيلم في فترات زمنية محددة (24، 48 و 72 ساعة) ودرجات حرارة (25، 30 و 40 درجة مئوية) وعلى أسطح محددة (التفلون). أظهرت النتائج أن للسكريات تأثيرات متباينة على تكوين البايوفيلم، اعتمادًا على السلالة، ودرجة الحرارة، ومدة التحضين. عزز الجالاكتوز تكوينًا أوليًا عاليًا للبايوفيلم بقيمة 1.74 نانومتر، يليه اللاكتوز 1.53 نانومتر والجلوكوز 1.08 نانومتر. في الختام، تسلط هذه الدراسة الضوء على أهمية مراعاة مصادر الكربون في صناعة الألبان، حيث تؤثر على تكوين البايوفيلم. سيساعد فهم هذه التفاعلات في تطوير استراتيجيات التحكم للحفاظ على جودة وسلامة الأغذية في هذه الصناعة.

**الكلمات المفتاحية:** البايوفيلم، الإشريكية القولونية، درجة الحرارة، مصدر الكربون، الوقت، التفلون، صناعة الألبان.