

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
UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN
كلية علوم الطبيعة و الحياة ، و علوم الأرض و الكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers



Département de BIOLOGIE



MEMOIRE

Présenté par

AMARA Djamel Eddine
AZIZ Mustapha

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie fondamentale

Thème

**Impact des facteurs environnementaux sur la capacité
de formation de biofilm d'*Escherichia coli***

Soutenu le 22/06/2026, devant le jury composé de :

Présidente	Mme. BENDIMERAD Nahida	MCA	Université de Tlemcen
Promotrice	Mme. CHERIF ANNTAR Asmaa	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme. BELLIFA Samia	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2025-2026

Remerciements



Avant tout, nous voulons remercier Dieu Tout-Puissant, qui nous a donné la santé, la patience et la force de mener cette année d'études et ce travail de recherche jusqu'au bout.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Mme CHERIF ANNTAR Asma, notre encadrante, Maître de Conférences A à l'Université de Tlemcen. Travailler sous votre direction a été une expérience enrichissante. Votre écoute, votre patience et vos précieux conseils nous ont guidées à chaque étape et nous ont permis de progresser. Nous espérons que ce mémoire reflète la confiance que vous nous avez accordée.

Nous remercions également chaleureusement les membres du jury:

**Mme BENDIMRED Nahida, Maître de Conférences B, pour l'honneur de présider ce jury et pour sa bienveillance qui nous a beaucoup encouragées.*

** Mme BELLIFA Samia, Maître de Conférences A, pour le temps et l'intérêt qu'elle a consacrés à l'évaluation de notre travail.*

Nous tenons aussi à remercier tous les membres des laboratoires où ce mémoire a été réalisé :

** Laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences et Techniques Appliquées (ISTA - Université de Tlemcen)*

**Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE - Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen).*

Merci à toute l'équipe pour votre accueil, votre disponibilité et votre soutien. Votre aide a été précieuse pour la réalisation de ce travail.





Dédicaces



DJAMEL EDDINE

بسم الله الرحمن الرحيم

Avec tout mon amour et ma reconnaissance, je dédie ce travail

A moi-même, et à mon cher binôme,

À notre collaboration, notre courage et notre persévérance tout au long de ce parcours universitaire.

Je nous souhaite un avenir plein de réussite, de bonheur et de succès.

À mes chers parents,

Pour votre amour infini, votre soutien et vos sacrifices, votre présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

À ma sœur, CHAIMAA et mon petit frère ISLEM

Pour votre présence et vos encouragements constants. Merci pour votre gentillesse, votre soutien et vos encouragements précieux.

À mes chères cousines,

Pour leur présence et leur complicité, mes cousines ont toujours été là pour partager, me soutenir et m'encourager dans chaque étape.

À mes chers amis,

ISLEM, KHATIR, KARIM et DIAH mes frères de cœur, toujours présents dans les bons comme dans les mauvais moments, pour rire, soutenir et partager chaque étape de la vie.





Dédicaces



MUSTAPHA

بسم الله الرحمن الرحيم

Avec tout mon amour et ma reconnaissance, je dédie ce travail

A moi-même, et à mon cher binôme,

*À notre collaboration, notre courage et notre persévérance tout au long de ce
parcours universitaire.*

Je nous souhaite un avenir plein de réussite, de bonheur et de succès.

A mes chers parents,

*Pour votre amour infini, votre soutien et vos sacrifices, votre présence à mes côtés a
toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

À ma sœur, IMENE

Pour sa présence et son encouragement constant.

Merci pour ta présence, ta gentillesse et tes encouragements précieux.

À mon grand-père et ma tante,

*Pour leur sagesse et leurs précieux conseils, ils ont toujours été présents à mes
Côtés pour me soutenir, m'encourager et me conseiller.*

À mes chers amis,

*ISLEM, KHATIR, KARIM et DIAH mes frères de cœur, toujours présents dans
les bons comme dans les mauvais moments, pour rire, soutenir et partager
chaque étape de la vie.*



Table des matières

INTRODUCTION.....	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre I : Le biofilm bactérien.....	Erreur ! Signet non défini.
I. 1. Définition du biofilm	4
I. 1.1 .Historique	5
I. 1.2 Différence entre cellules planctoniques et sessiles	5
I.2 Structure et organisation du biofilm.....	7
I.2.1.Architecture tridimensionnelle.....	7
I.2.2. Composition de la matrice extracellulaire (EPS) du biofilm	8
I.2.3.Hétérogénéité physiologique au sein du biofilm	12
I.3. Étapes de formation du biofilm	13
I.3.1.Adhésion réversible	13
I.3.2.Adhésion irréversible	14
I.3.3.Maturation	15
I.3.4.Dispersion:.....	16
I.4. Mécanismes moléculaires impliqués	17
I.4.1.Facteurs d'adhésion.....	17
I.4.2.Communication cellulaire (quorum sensing)	20
I.4.3.Régulation génétique de la formation du biofilm.....	21
I.5. Facteurs influençant la formation du biofilm	21
I.5.1. Facteurs physico-chimiques	22
I.5.2. Facteurs nutritionnels.	23
I.5.3. Nature et propriétés des surfaces	24
I.5.4. Film de conditionnement	25
I.6. Importance des biofilms en industrie agroalimentaire	26
Chapitre II : <i>Escherichia coli</i> et sa capacité de formation du biofilm.....	Erreur ! Signet non défini.
II.1. Généralités sur <i>Escherichia coli</i>	31
II.1.1. Taxonomie et classification:	31
II.1.2. Caractéristiques morphologiques.....	32
II.1.3 Habitat et écologie de <i>Escherichia coli</i> :.....	33
II.2. Facteurs de virulence et mécanismes d'adhésion	34
II.2.1 Fimbriae et adhésines :	34
II.2.2. Curli	35
II.2.3. Flagelles.....	36
II.2.4. Production de polysaccharides extracellulaires.	36
II.3. Capacité de formation du biofilm chez <i>Escherichia coli</i>	37
II.3.1. Mécanismes d'adhésion	38
II.3.2. Production de la matrice extracellulaire.....	38

II.3.3. Régulation génétique.....	39
II.3.4. Influence des facteurs environnementaux	40
II.4. Importance d' <i>Escherichia coli</i> dans l'industrie laitière	42
II.4.1. Contamination des lignes de production.....	42
II.4.2. Persistance après nettoyage :	43
II.4.3. Risques pour la sécurité alimentaire :).	44
Matériel Méthodes	Erreur ! Signet non défini.
1. Lieu d'étude:	46
2. Origine des souches	46
3. Revivification des souches :	46
4. Observation microscopique :	46
5. Conservation des souches :	47
6. Effet de la température sur la formation du biofilm chez <i>Escherichia coli</i> :	47
6.1 Préparation de l'inoculum:.....	48
6.2 Formation du biofilm:.....	48
6.3 Quantification du biofilm formé :	48
7. Effet du film de conditionnement sur la formation du biofilm chez <i>Escherichia coli</i> :	50
7.1 Préparation des surfaces en acier inoxydable:	51
7.2 Formation du biofilm:.....	51
7.3 Quantification des cellules adhérees :	51
Résultats et discusion	Erreur ! Signet non défini.
1. Observation macroscopique et microscopique des souches	53
2. Effet de la température sur la formation du biofilm chez <i>Escherichia coli</i> :	54
2.1 Formation de biofilm à 20 C ° :	54
2.2 Formation de biofilm à 30 C°:	55
2.3 Formation de biofilm à 40 C° :	56
3. Effet du film de conditionnement sur la formation du biofilm chez <i>Escherichia coli</i> :	57
4. Discussion.....	58
Conclusion.....	Erreur ! Signet non défini.
Les Références :	Erreur ! Signet non défini.

Liste des abréviations

1. AAF: fimbriae d'adhérence agrégative
2. ADN : Acide désoxyribonucléique
3. ADNr: ADN ribosomal
4. Agr: Accessory Gene Regulator
5. ARDRA: Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis
6. ARN: acide ribonucléique
7. BHIB: Brain Heart Infusion Broth, Germany
8. c-di-GMP: cyclique di-GMP
9. CIP: Clean in Place
10. Co: Degré Celsius
11. d: facteur de dilution.
12. *E.Coli*: *Escherichia coli*
13. EAEC : *Escherichia coli* entéroaggrégatives
14. eDNA: ADN extracellulaire
15. EHEC: *Escherichia coli* entérohémorragique
16. EPS: substances polymériques extracellulaires
17. LuxS: LuxS synthase
18. ML: Millilitre
19. MSCRAMMS: Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
20. n: nombre de colonies dénombrées.
21. NEP: nettoyage en place
22. Nm : nanomètre
23. p/v: Pathovar
24. PBS: Phosphate Buffered Saline ou Solution saline tamponnée au phosphate

- 25. pH: Potentiel d'Hydrogène
- 26. PTS: le système phosphotransférase
- 27. QS: quorum sensing
- 28. RAPD-PCR: Random Amplified Polymorphic DNA
- 29. S: surface de la lame correspondant à 5 cm²
- 30. SRNA: petits ARN non codants
- 31. STEC: *Escherichia coli* shigatoxines
- 32. UFC Unité Formant Colonie
- 33. UHT: Ultra Haute Température
- 34. v: volume utilisé pour le dénombrement.
- 35. µl : microlitre

Liste des Figures

Figure 1: représentation schématique de la structure d'un biofilm bactérien (Aroso et al .; 2021).....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 2: structure trridimensionnelle d'un biofilm bactérien, montrant le flux du fluide dans les canaux hydriques (flèches bleues)) (costerton et stewart, 2001)	8
Figure 3: les étapes de formation des biofilms (luo et al.,2022)	17
Figure 4: Ultrastructure de la bactérie Escherichia coli (horton et al.,1994)	31
Figure 5: micrographies électriques a balayage montrant la morpjologie d'Escherichia coli. la forme en batonnet et les flagelles (A) ainsi que l'organisation cellulaire dans une colonie (B° sont clairement visibles, illustrant la structure cellulaire et les appendices de mobilité de cette bactérie Gram-négative (Buszewski <i>et al.</i> ,2007)	33
Figure 6: observation en microcopie électronique à balayage d'une biofilm d'Escheriachia coli : réseau bactérien et matrice extracellulaire (Toussaint et al.,2003)	38
Figure 7: observation microscopique des souches des frottis après coloration au bleu de méthylène.	47
Figure 8: Préparation des géloses inclinées pour la conservation des souches.....	47
Figure 9: microplaque de titrationensemencée.....	48
Figure 10: microplaques avec puits additionnées de cristal violet.....	49
Figure 11: microplaqued après élimination du cristal violet et séchage à l'air libre l'adhésion bactérienne a été évaluée par mesure de l'absorbance à 596 nm à l'aide d'un lecteur automatique de microplaque	50
Figure 12: leseure de l'absorbance à 596 nm	50
Figure 13: formation de biofilm sur les lames d'acier inoxydable conditionnées, a: lames conditionnées immergées dans l'inoculum, b: conditionnement de lames avec le lait entier UHT.....	51
Figure 14: Procédure de récupération des cellules adhérees.....	52
Figure 15: Aspect des colonies de la souche E.coli 82 sur la gélose Mac Conkey.....	53
Figure 16: observation microscopique de la souche E.coli 82 après coloration au bleu de méthélène G 10x100.....	54
Figure 17: formation de biofilm par les souches de E.coli à 20 C° en fonction du temps d'incubation (DO à 596 nm).....	55
Figure 18: formation de biofilm par les souches de E.coli à 30 C° en formation du temps d'incubation (D0 à 596 nm).....	56
Figure 19: formation de biofilm par E.coli à 40 C° en fonction du temps d'incubation (DO à 596 nm)	57
Figure 20: evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souxhes de E.coli sur les surfaces d'acier inoxydable conditionnées avec le lait	58

Liste des tableaux

Tableau 1: comparaison des caractéristiques des cellules planctonique et sessiles dans le contexte agroalimentaire (Guillin et al., 2025; Liu et al., 2024; Olaimat et al., 2024; Venkateswaran et al., 2022; Arnouteli et al., 2021).....	7
Tableau 2: influence des facteurs physico-chimiques sur la formation des biofilms bactériens en agroalimentaire (Chen et al., 2024; Javed et al., 2024; Rahman et al., 2024; Zhao et al., 2024; Maurya et al., 2022; Osek et al., 2022)	23

الملخص:

يمثل الغشاء الحيوي البكتيري مجتمعًا منظمًا من الكائنات الحية الدقيقة المتصقة بالأسطح، والحماية بمصفوفة خارج الخلية (EPS). يمنح هذا الهيكل فوائد تكيفية للبكتيريا، بما في ذلك مقاومة الضغوط البيئية والعوامل المضادة للميكروبات. في سياق الأغذية الزراعية، يشكل تكوين الأغشية الحيوية بواسطة *Escherichia coli* تحديًا كبيرًا للسلامة الصحية، نظرًا لاستمرارها على المعدات وأسطح الإنتاج.

تركز هذه الدراسة على ثلاث سلالات من *E. coli* (*E. coli* 73، *E. coli* 82، و *E. coli* ATCC 25922) المعزولة من أقمشة إنتاج الحليب الخام قبل وبعد البسترة. تم توصيف السلالات شكليًا ووراثيًا (RAPD-PCR، ARDRA، تسلسل S16)، ثم تم تقييم قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية في المختبر على الألواح الدقيقة وأسطح الفولاذ المقاوم للصدأ. تم فحص تأثير درجة الحرارة (20، 30، 40°C) ووقت الحضانة (2، 4، 6 و 24 ساعة) على إنتاج الأغشية الحيوية بطريقة التلوين البنفسجي البلوري. تم أيضًا تقييم تأثير تكييف الحليب كامل الدسم UHT على أسطح الفولاذ المقاوم للصدأ على تكوين الأغشية الحيوية بواسطة نفس السلالات.

وأظهرت النتائج أن تكوين الأغشية الحيوية يختلف حسب السلالة ودرجة الحرارة ووقت الحضانة. أظهرت سلالة *E. coli* 82 أعلى قدرة إنتاجية، مع كثافة بصرية قصوى تبلغ 30°C بعد 24 ساعة. كما أن وجود طبقة تكييف على الفولاذ المقاوم للصدأ يعزز الالتصاق البكتيري. وتسلط هذه الملاحظات الضوء على أهمية الظروف البيئية والعوامل السطحية في استمرار الأغشية الحيوية لبكتيريا *E. coli* في صناعة الأغذية، وتسلط الضوء على الحاجة إلى استراتيجيات مكافحة فعالة للحد من مخاطر التلوث.

الكلمات المفتاحية: *Escherichia coli*، الأغشية الحيوية، درجة الحرارة، مدة الحضانة، فيلم تكييف الحليب، الفولاذ المقاوم للصدأ، السلامة الصحية.

Abstract :

The bacterial biofilm represents an organized community of microorganisms adhering to surfaces, protected by an extracellular matrix (EPS). This structure confers adaptive benefits to bacteria, including resistance to environmental stresses and antimicrobial agents. In the agri-food context, the formation of biofilm by *Escherichia coli* constitutes a major challenge for health safety, due to its persistence on equipment and production surfaces.

This study is focused on three strains of *E. coli* (*E. coli* 73, *E. coli* 82 and *E. coli* ATCC 25922) isolated from raw milk production cloths before and after pasteurization. The strains were characterized morphologically and genetically (RAPD-PCR, ARDRA, 16S sequencing), then their biofilm formation capacity was evaluated in vitro on microplates and stainless steel surfaces. The effect of temperature (20, 30, 40 °C) and incubation time (2, 4, 6 and 24 h) on biofilm production was examined by the crystal violet staining method. The effect of UHT whole milk conditioning on stainless steel surfaces on biofilm formation by the same strains was also evaluated.

The results showed that biofilm formation varies depending on the strain, temperature and incubation time. The *E. coli* 82 strain showed the highest production capacity, with a maximum optical density of 30 C° after 24 h. The presence of a conditioning film on stainless steel also promoted bacterial adhesion. These observations highlight the importance of environmental conditions and surface factors in the persistence of *E. coli* biofilms in the food industry, and highlight the need for effective control strategies to limit the risks of contamination.

Keyword: *Escherichia coli*, biofilm, temperature, incubation time, milk conditioning film, stainless steel, food industry, health safety.

Résumé:

Le biofilm bactérien représente une communauté organisée de micro-organismes adhérant à des surfaces, protégée par une matrice extracellulaire (EPS). Cette structure confère aux bactéries des avantages adaptatifs, incluant la résistance aux stress environnementaux et aux agents antimicrobiens. Dans le contexte agroalimentaire, la formation de biofilm par *Escherichia coli* constitue un enjeu majeur pour la sécurité sanitaire, en raison de sa persistance sur les équipements et surfaces de production.

Cette étude est portée sur trois souches d'*E. coli* (*E. coli* 73, *E. coli* 82 et *E. coli* ATCC 25922) isolées des linges de production de lait cru avant et après pasteurisation. Les souches ont été caractérisées morphologiquement et génétiquement (RAPD-PCR, ARDRA, séquençage 16S), puis leur capacité de formation de biofilm a été évaluée in vitro sur microplaques et surfaces d'acier inoxydable. L'effet de la température (20, 30, 40°C) et du temps d'incubation (2, 4, 6 et 24 h) sur la production de biofilm a été examiné par la méthode de coloration au cristal violet. L'effet du conditionnement des surfaces en acier inoxydables par le lait entier UHT sur la formation de biofilm par les mêmes souches a également été évalué.

Les résultats ont montré que la formation de biofilm varie selon la souche, la température et la durée d'incubation. La souche *E. coli* 82 a présenté la plus forte capacité de production, avec une densité optique maximale à 30°C après 24 h. La présence d'un film de conditionnement sur acier inoxydable a également favorisé l'adhésion bactérienne. Ces observations soulignent l'importance des conditions environnementales et des facteurs de surface dans la persistance des biofilms d'*E. coli* en industrie agroalimentaire, et mettent en évidence la nécessité de stratégies de contrôle efficaces pour limiter les risques de contamination.

Mots-clés : *Escherichia coli*, biofilm, température, temps d'incubation, film de conditionnement laitier, acier inoxydable, sécurité alimentaire.



INTRODUCTION



INTRODUCTION

La formation de biofilms bactériens représente un phénomène biologique complexe et d'une grande importance pratique, notamment dans les industries alimentaires. Un biofilm est une communauté structurée de micro-organismes qui s'attachent à une surface et se développent dans une matrice polymérique extracellulaire qu'ils sécrètent. Cette matrice riche en polysaccharides, protéines et acides nucléiques confère aux cellules une protection contre les contraintes externes, qu'il s'agisse de changements physico-chimiques ou d'agents désinfectants. Contrairement aux cellules planctoniques libres, les cellules intégrées dans un biofilm présentent des caractéristiques physiologiques et comportementales très différentes, notamment une résistance accrue aux stress environnementaux et aux traitements antimicrobiens (Liu *et al.*, 2023; Carrascosa *et al.*, 2021).

En industries agroalimentaires, les biofilms se forment sur divers types de surfaces, notamment le métal, le plastique ou le verre. Leur présence est souvent associée à des difficultés de nettoyage et à des risques de contamination des produits finis. Ces structures microbiennes peuvent survivre aux processus d'hygiène traditionnels et persister sur les équipements, représentant une source potentielle de contamination résiduelle malgré les opérations de nettoyage en place et l'application de désinfectants (Zhou *et al.*, 2022).

Parmi les bactéries impliquées dans la contamination alimentaire, *Escherichia coli* occupe une place importante en raison de sa prévalence dans l'environnement, de sa diversité génétique et de la capacité de certaines de ses souches à provoquer des maladies d'origine alimentaire. Au-delà de son rôle pathogène potentiel, *E. coli* est également reconnue pour sa capacité à former des biofilms robustes sur une variété de surfaces technologiques. Cette aptitude complique la maîtrise microbiologique dans les installations de transformation, car les cellules intégrées dans le biofilm résistent davantage aux procédures de nettoyage et de désinfection classiques et peuvent se détacher de manière intermittente, entraînant ainsi des contaminations croisées (Zhou *et al.*, 2022).

La capacité d'*E.coli* à établir un biofilm est le résultat d'un ensemble d'étapes biologiquement régulées, débutant par l'adhésion initiale des cellules à la surface, suivie par l'adhésion irréversible, la production abondante de matrice extracellulaire, la maturation structurée de la communauté et finalement la dispersion de cellules planctoniques capables de coloniser de nouveaux sites. Ces processus sont modulés par des mécanismes moléculaires tels que les appendices d'adhésion (fimbriae, flagelles), la production de composants matriciels et la communication cellulaire par quorum sensing, ainsi que par des facteurs

INTRODUCTION

génétiques internes qui régulent l'expression de gènes spécifiques à l'état biofilmique (Öztürk *et al.*, 2022).

En outre, les conditions environnementales jouent un rôle déterminant dans l'initiation et le développement des biofilms. Les paramètres environnementaux tels que la température, le pH, la disponibilité des nutriments et les propriétés physico-chimiques de la surface influencent significativement la dynamique d'adhésion et la stabilité des biofilms. Par exemple, certaines surfaces présentant une rugosité ou une hydrophobicité particulières favorisent l'attachement bactérien, tandis que la présence d'un film de conditionnement organique peut modifier les interactions cellule-surface et faciliter le développement de biofilm (Zhou *et al.*, 2022 ; Stanford, 2021).

Dans l'industrie agroalimentaire, les biofilms suscitent une attention particulière en raison de leurs effets sanitaires, économiques et technologiques. Ils augmentent les risques de contamination persistante des denrées, diminuent l'efficacité des procédés de nettoyage et de désinfection, et nécessitent des stratégies de maîtrise plus sophistiquées pour assurer la sécurité des produits. Une compréhension approfondie des mécanismes de formation et des facteurs qui influencent les biofilms est donc un prérequis indispensable pour développer des mesures préventives et des approches de contrôle adaptées au contexte industriel.

L'objectif principal du présent travail s'inscrit dans cadre de l'étude de l'effet des facteurs environnementaux sur la formation de biofilm par des souches de *Escherichia coli* isolées des lignes de production de lait cru pasteurisé. Parmi ces conditions; la température et le conditionnement des surfaces.

Ce mémoire est structuré en trois parties :

1. La première partie concerne la synthèse bibliographique qui est composée de deux chapitres. Le premier parlera des généralités sur les biofilms alors que le second donnera des généralités sur *Escherichia coli*.

2. La deuxième partie présentera la méthodologie envisagée pour atteindre notre objectif.

3. La dernière partie comportera une présentation des résultats obtenus et leur discussion.

Une conclusion clôtura le travail.



Chapitre I :
Le Biofilm Bactérien



I. 1. Définition du biofilm

Les biofilms correspondent à des communautés organisées de micro-organismes qui se développent en adhérant à des surfaces vivantes ou inertes. Ces communautés sont intégrées dans une matrice extracellulaire qu'elles produisent elles-mêmes, ce qui favorise les interactions entre les cellules et leur adaptation à l'environnement (Zhao *et al.*, 2023; Sauer *et al.*, 2022).

La structure des biofilms repose principalement sur une matrice composée de substances polymériques extracellulaires (EPS). Cette matrice est constituée de divers composants tels que des polysaccharides, des protéines, de l'ADN extracellulaire et des lipides, qui assurent la cohésion de la communauté microbienne et contribuent à la stabilité de l'ensemble du biofilm (Flemming *et al.*, 2025; Saharan *et al.*, 2024).

Les biofilms peuvent se développer sur une grande variété de surfaces, notamment sur les tissus biologiques, les dispositifs médicaux ainsi que les surfaces rencontrées dans les environnements industriels et agroalimentaires. Cette capacité d'adhésion permet aux micro-organismes de coloniser différents milieux et de s'adapter à diverses conditions environnementales, en particulier dans les systèmes de transformation alimentaire (Olaimat *et al.*, 2024; Saharan *et al.*, 2024; Zhao *et al.*, 2023).

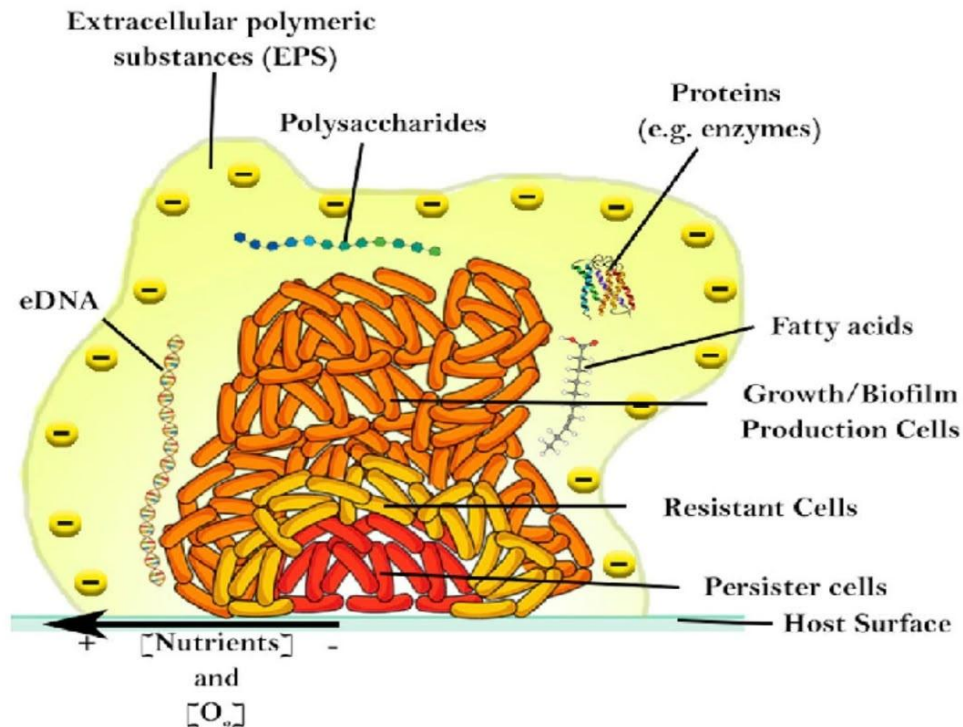


Figure 01 : représentation schématique de la structure d'un biofilm bactérien (Aroso *et al.* ; 2021)

I. 1.1 .Historique

L'intérêt pour les microorganismes associés aux surfaces remonte aux premières observations microbiologiques réalisées au XVII^e siècle par Antonie van Leeuwenhoek. A l'aide des microscopes qu'il avait lui-même conçus, il observa la présence de microorganismes au niveau de la plaque dentaire, mettant ainsi en évidence l'existence de communautés microbiennes fixées sur des surfaces (Guerrero, 2023; Vestby *et al.*, 2020).

Pendant longtemps, les recherches en microbiologie se sont essentiellement intéressées aux bactéries vivant à l'état libre, appelées cellules planctoniques. Toutefois, cette conception a progressivement évolué grâce aux travaux menés au cours des années 1970 et 1980, qui ont montré que les bactéries se développent majoritairement sous forme de communautés organisées adhérant aux surfaces. Ces recherches ont conduit à l'émergence du concept moderne du biofilm, défini comme un assemblage structuré de microorganismes entourés d'une matrice extracellulaire produite par les cellules elles-mêmes (Römling, 2023; Fields *et al.*, 2020).

Par la suite, les progrès réalisés dans les techniques de microscopie et de biologie moléculaire ont permis d'approfondir les connaissances sur l'organisation et le fonctionnement des biofilms. Les chercheurs ont notamment décrit les différentes étapes impliquées dans leur développement, depuis l'adhésion initiale des cellules jusqu'à la maturation du biofilm et à la dispersion bactérienne. Ces avancées ont contribué à l'établissement du modèle du cycle de vie des biofilms actuellement largement admis dans la littérature scientifique (Sauer *et al.*, 2022).

Aujourd'hui, les biofilms représentent un important domaine de recherche en microbiologie en raison de leur implication dans plusieurs secteurs, notamment la santé, l'environnement et l'industrie agroalimentaire. Les travaux récents s'intéressent particulièrement à la communication cellulaire, aux phénomènes de résistance aux agents antimicrobiens ainsi qu'au développement de nouvelles approches visant à prévenir ou à contrôler la formation des biofilms sur les surfaces industrielles et alimentaires (Damyanova & Paunova-Krasteva, 2025).

I. 1.2 Différence entre cellules planctoniques et sessiles

Les bactéries peuvent exister sous deux modes de vie distincts: l'état planctonique, dans lequel les cellules sont libres et dispersées dans le milieu, et l'état sessile, caractérisé par l'adhésion des microorganismes à une surface et leur organisation en communautés structurées appelées biofilms. Cette transition entre les deux états implique des modifications physiologiques et métaboliques importantes qui permettent aux bactéries de s'adapter aux conditions environnementales changeantes (Guillín *et al.*, 2025; Arnaouteli *et al.*, 2021).

Chapite I : Le biofilm bactérien

Dans leur forme planctonique, les bactéries évoluent généralement de manière isolée dans un environnement liquide et présentent une activité métabolique orientée vers la croissance rapide et la dispersion.

À l'inverse, les cellules sessiles se développent sous forme de communautés organisées, intégrées dans une matrice extracellulaire produite par les microorganismes eux-mêmes. Cette organisation favorise les interactions entre les cellules et contribue à la stabilité structurelle du biofilm (Venkatasewaran *et al.*, 2022 ; Arnaouteli *et al.*, 2021).

La transition du mode de vie planctonique vers l'état sessile constitue une étape essentielle dans le processus de formation du biofilm. Ce changement est contrôlé par différents mécanismes moléculaires et systèmes de communication cellulaire, notamment le quorum sensing, qui régule l'adhésion bactérienne, la production de la matrice extracellulaire et l'organisation tridimensionnelle de la communauté microbienne (Venkatasewaran *et al.*, 2022).

Par ailleurs, les cellules sessiles présentent des propriétés physiologiques distinctes de celles observées chez les cellules planctoniques. Elles montrent notamment des adaptations métaboliques et une réduction du taux de croissance, ce qui favorise leur persistance dans des environnements défavorables et contribue au maintien du biofilm (Guillin *et al.*, 2025).

Enfin, une différence importante entre les cellules planctoniques et les cellules sessiles concerne la capacité des biofilms à mieux résister aux agents antimicrobiens ainsi qu'aux opérations de nettoyage et de désinfection. La matrice extracellulaire qui entoure les cellules bactériennes agit comme une barrière limitant la diffusion de certaines substances

Dans les antimicrobiennes. De plus, les adaptations physiologiques développées par les bactéries au sein du biofilm renforcent leur aptitude à survivre conditions défavorables. Dans des environnements agroalimentaires, cette tolérance contribue à la persistance des microorganismes sur les surfaces de transformation et rend leur élimination plus difficile (Liu *et al.*, 2024; Olaimat *et al.*, 2024).

Chapite I : Le biofilm bactérien

Tableau 1: comparaison des caractéristiques des cellules planctonique et sessiles dans le contexte agroalimentaire (Guillin *et al.*, 2025 ; liu *et al.*, 2024 ; Olaimat *et al.*, 2024 ; venkateswaran *et al.*, 2022 ; Arnouteli *et al.*, 2021) :

caractéristique	Calculus planctonique	Cellules sessiles
Mode de vie	Libre dans le milieu liquide, dispersées.	attachées à une surface organisées en communautés structurées.
Activité métabolique	Croissance rapide, orientée vers la dispersion	Croissance réduite, adaptations métabolique pour persistance.
Matrice extracellulaire	absente	Présente, produite par les bactéries elles-même renforce la cohésion et stabilité.
Communication cellulaire	limitée	Régulée par quorum sensing, contrôle l'adhésion production de matrice organisation tridimensionnelle.
Tolérance aux antimicrobiens	Sensibles, diffusion directe des agents.	Haute résistance, matrice extracellulaire limite la diffusion, adaptations physiologiques renforcent survie.
Pertinence en agroalimentaire	Faible persistance sur surfaces de transformation	Persistance élevée, difficile à éliminer, risque pour la sécurité alimentaire

I.2 Structure et organisation du biofilm

Les biofilms présentent une organisation structurale complexe permettant aux microorganismes de se développer sous forme de communautés organisées et adaptées à leur environnement. Cette organisation repose sur la répartition spatiale des cellules bactériennes ainsi que sur la présence d'une matrice extracellulaire qui assure la cohésion et la stabilité de l'ensemble du biofilm. La structure du biofilm intervient également dans les échanges de nutriments, la communication cellulaire et la protection des bactéries contre différentes contraintes environnementales (Flemming *et al.*, 2023; Bridier & Briandet, 2022).

I.2.1. Architecture tridimensionnelle: Les biofilms bactériens possèdent une organisation spatiale complexe qui se développe sous la forme d'une structure tridimensionnelle. Dans cette organisation, les cellules bactériennes sont incluses dans une matrice extracellulaire produite par les microorganismes eux-mêmes. Cette matrice, constituée principalement de polysaccharides, de protéines filamenteuses et d'ADN extracellulaire, contribue au maintien de la cohésion du biofilm et participe à sa stabilité face aux contraintes du milieu (Böhning *et al.*, 2024; Flemming *et al.*, 2023).

Chapite I : Le biofilm bactérien

L'architecture des biofilms n'est toutefois pas homogène. Elle est généralement composée de microcolonies séparées par des pores et des canaux internes permettant la circulation des nutriments, de l'oxygène et des différents métabolites à travers le biofilm. Des études réalisées sur *Escherichia coli* ont montré que l'organisation et la morphologie de ces canaux peuvent varier selon plusieurs paramètres environnementaux, notamment la disponibilité des nutriments et les caractéristiques physiques de la surface colonisée (Bottura *et al.*, 2022; Jo *et al.*, 2022).

Les interactions entre les espèces microbiennes participent également à l'organisation spatiale des biofilms. Certaines bactéries sont capables de coloniser des biofilms déjà formés et d'occuper des localisations spécifiques au sein de la structure tridimensionnelle. Des travaux portant sur la colonisation de *Legionella* dans des biofilms formés par *Pseudomonas* ont notamment montré que la distribution des cellules dépend à la fois des interactions entre les espèces présentes et des conditions environnementales du milieu (Silva *et al.*, 2024; Bridier & Briandet, 2022).

Par ailleurs, les recherches récentes en biophysique microbienne indiquent que l'architecture des biofilms résulte de l'action combinée de plusieurs facteurs, tels que la croissance cellulaire, les forces mécaniques et l'occupation progressive des micro-espaces disponibles. L'ensemble de ces mécanismes conduit à la formation de structures multicellulaires organisées capables de s'adapter aux variations des conditions environnementales et d'optimiser l'utilisation des ressources disponibles (Baquero *et al.*, 2025; Böhning *et al.*, 2024).

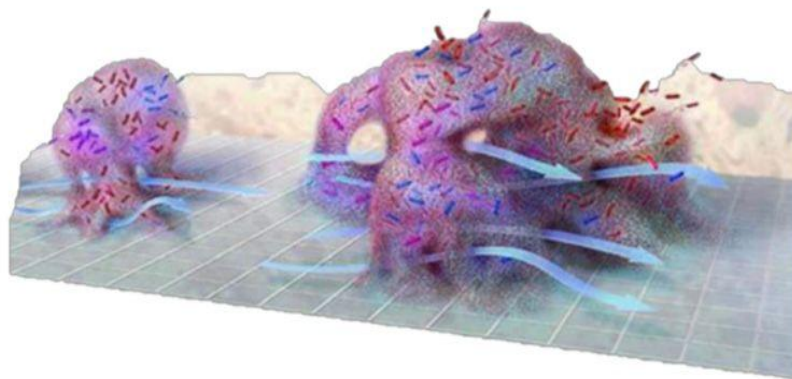


Figure 1: structure tridimensionnelle d'un biofilm bactérien, montrant le flux du fluide dans les canaux hydriques (flèches bleues) (costerton et stewart, 2001)

I.2.2. Composition de la matrice extracellulaire (EPS) du biofilm : La matrice extracellulaire constitue l'un des éléments fondamentaux de l'organisation des biofilms bactériens. Elle entoure les cellules microbiennes et assure la cohésion ainsi que la stabilité de la communauté

bactérienne. Cette matrice est formée d'un ensemble de substances polymériques extracellulaires (EPS), comprenant principalement des exopolysaccharides, des protéines, de l'ADN extracellulaire et de l'eau. Ces différents constituants participent à l'organisation structurale du biofilm et interviennent dans les interactions entre les cellules bactériennes et leur environnement (Ragupathi *et al.*, 2024; Flemming *et al.*, 2023).

I.2.2.1 Exopolysaccharides: Les exopolysaccharides représentent l'un des principaux composants de la matrice extracellulaire des biofilms. Il s'agit de polymères glucidiques synthétisés et sécrétés par les bactéries au cours de leur croissance. Ces composés jouent un rôle important dans l'adhésion des cellules aux surfaces ainsi que dans le maintien de l'organisation tridimensionnelle du biofilm (Ragupathi *et al.*, 2024; Flemming *et al.*, 2023).

La synthèse des exopolysaccharides est régulée par différents mécanismes génétiques et systèmes de signalisation cellulaire impliqués dans le développement du biofilm. Ces mécanismes permettent aux bactéries d'adapter la production des EPS aux conditions du milieu et aux besoins physiologiques de la communauté microbienne (Das, 2022 ; Saxena *et al.*, 2022).

Au sein du biofilm, les exopolysaccharides assurent plusieurs fonctions essentielles. Ils participent à la formation d'un réseau polymérique qui contribue à protéger les cellules bactériennes contre diverses contraintes environnementales, notamment l'action des agents antimicrobiens. Ils favorisent également les interactions entre les cellules et permettent la rétention des nutriments, de l'eau et de certaines enzymes extracellulaires à l'intérieur de la matrice (Amyx-Sherer & Reichhardt, 2024 ; Jyoti *et al.*, 2024).

Dans les environnements industriels et particulièrement agroalimentaires, les exopolysaccharides interviennent aussi dans la colonisation des surfaces par les bactéries. Plusieurs travaux ont montré que des espèces telles qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont capables de produire des matrices riches en EPS favorisant la formation de biofilms sur les matériaux utilisés dans les équipements de transformation alimentaire. Cette capacité contribue à la persistance des microorganismes sur les surfaces et peut constituer une source importante de contamination dans les installations agroalimentaires (Akter *et al.*, 2025; Olaimat *et al.*, 2024).

Ainsi, les exopolysaccharides constituent un élément essentiel de la matrice extracellulaire des biofilms. Leur diversité structurale et leurs différentes fonctions participent à l'adaptation et au maintien des communautés bactériennes dans de nombreux environnements microbiens (Ragupathi *et al.*, 2024; Flemming *et al.*, 2023)

I.2.2.2 Protéines: Les protéines figurent parmi les principaux constituants de la matrice extracellulaire des biofilms bactériens. En association avec les polysaccharides, les lipides et l'ADN extracellulaire, elles participent à la formation d'un réseau polymérique complexe assurant l'organisation et la stabilité du biofilm. Elles interviennent également dans les interactions entre les cellules bactériennes et leur environnement (Ragupathi *et al.*, 2024; Flemming *et al.*, 2023).

Certaines protéines de la matrice jouent un rôle direct dans l'adhésion et l'agréation des bactéries. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, la protéine CdrA agit notamment comme une adhésine fibrillaire favorisant les interactions cellulaires et le renforcement de la structure du biofilm. Ces protéines extracellulaires possèdent généralement des domaines fonctionnels leur permettant d'interagir avec d'autres composants de la matrice ou de se fixer aux surfaces colonisées (Reichhardt, 2023 ; Flemming *et al.*, 2023).

Les protéines matricielles participent également aux propriétés physiques du biofilm. Leur présence au sein de la matrice extracellulaire contribue à la cohésion, à l'élasticité et à la résistance mécanique de la structure. Ces caractéristiques permettent aux biofilms de mieux supporter différentes contraintes environnementales, telles que les forces de cisaillement ou les variations des conditions physico-chimiques du milieu (Hasan & Aggarwal, 2025 ; Ragupathi *et al.*, 2024).

Par ailleurs, certaines protéines interviennent dans l'organisation spatiale et l'assemblage de la matrice extracellulaire. Des études récentes ont montré que des protéines de membrane externe ainsi que d'autres protéines matricielles peuvent influencer la structuration du biofilm et les interactions entre les cellules bactériennes. Ces mécanismes participent au maintien de l'architecture et de la stabilité du biofilm (Potapova *et al.*, 2024; Flemming *et al.*, 2023).

Dans les environnements agroalimentaires, les protéines et les enzymes extracellulaires contribuent également à la persistance des biofilms sur les surfaces de transformation alimentaire. Certaines enzymes capables de dégrader les constituants de la matrice, notamment les protéines, les polysaccharides et l'ADN extracellulaire, sont actuellement étudiées comme approches potentielles pour perturber les biofilms et améliorer l'efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection dans l'industrie agroalimentaire (Akter *et al.*, 2025; Kim *et al.*, 2023).

Ainsi, les protéines occupent une place importante dans l'organisation structurale des biofilms bactériens. Leur implication dans l'adhésion cellulaire, la cohésion de la matrice extracellulaire et les propriétés mécaniques du biofilm contribue au maintien et à la persistance

des communautés microbiennes dans différents environnements (Hasan & Aggarwal, 2025; Flemming *et al.*, 2023).

I.2.2.3 ADN extracellulaire: L'ADN extracellulaire (eDNA) représente l'un des constituants majeurs de la matrice extracellulaire des biofilms bactériens. Il provient principalement de la lyse de certaines cellules bactériennes ou de mécanismes actifs de libération, puis s'accumule dans l'environnement immédiat des communautés microbiennes. Une fois libéré, cet ADN s'intègre aux substances polymériques extracellulaires entourant les cellules et participe à l'organisation générale du biofilm (Sharma & Rajpurohit, 2024; Yang *et al.*, 2022).

Au sein de la matrice extracellulaire, l'eDNA joue un rôle important dans la cohésion et la stabilité structurale du biofilm. Il interagit avec différents constituants des EPS, notamment les exopolysaccharides et certaines protéines matricielles, contribuant ainsi au renforcement du réseau polymérique. Ces interactions favorisent le maintien de l'architecture tridimensionnelle du biofilm et l'adhésion des bactéries aux surfaces colonisées (Rath *et al.*, 2025; Wang *et al.*, 2022).

L'eDNA intervient également dans l'adaptation des communautés bactériennes aux contraintes environnementales. En participant à la consolidation de la matrice extracellulaire, il contribue à la protection des cellules contre différents stress, y compris l'exposition à certains agents antimicrobiens. Cette propriété participe à la capacité des biofilms à persister dans divers environnements, notamment industriels et agroalimentaires (Ragupathi *et al.*, 2024; Flemming *et al.*, 2023).

Chez certaines bactéries, comme *Pseudomonas aeruginosa*, l'ADN extracellulaire est considéré comme un élément essentiel de la structure biofilmique. Des travaux expérimentaux ont montré que sa présence influence directement les propriétés mécaniques du biofilm et favorise la cohésion cellulaire, tandis que sa dégradation peut entraîner une altération de l'organisation de la matrice extracellulaire (Ferguson *et al.*, 2023).

Ainsi, l'eDNA contribue de manière significative à l'organisation et à la stabilité des biofilms bactériens. Son implication dans les interactions entre les constituants de la matrice extracellulaire participe au maintien et à la persistance des communautés microbiennes dans différents milieux (Rath *et al.*, 2025; Sharma & Rajpurohit, 2024).

I.2.2.4 Eau : L'eau constitue un élément majeur de la matrice extracellulaire des biofilms bactériens. Plusieurs études indiquent que la structure globale d'un biofilm est largement constituée d'eau, qui peut représenter une proportion très importante de sa composition totale. Cette eau est retenue au sein de la matrice polymérique contribuant ainsi au maintien de

l'hydratation et de l'intégrité structurale des communautés microbiennes (Flemming *et al.*, 2023; Quan *et al.*, 2022).

Dans les biofilms, l'eau peut exister sous différentes formes, notamment sous forme d'eau libre et d'eau associée aux composants de la matrice. L'eau liée est adsorbée aux structures polymériques de l'EPS, tandis que l'eau libre circule à travers les pores et les canaux présents dans l'architecture tridimensionnelle du biofilm. Ces microstructures hydratées facilitent la circulation de nutriments, de molécules de signalisation et de produits métaboliques à l'intérieur de la communauté bactérienne (Quan *et al.*, 2022).

La présence d'eau au sein du biofilm joue également un rôle important dans ses propriétés physiques et mécaniques. En interagissant avec les substances polymériques extracellulaires qui composent la matrice, l'eau contribue à maintenir l'hydratation et l'organisation structurale du biofilm. Cette interaction participe indirectement développement de propriétés telles que la viscosité, l'élasticité et la cohésion de la matrice. Ces caractéristiques confèrent aux biofilms une certaine capacité d'adaptation et leur permettent de mieux résister aux contraintes mécaniques ainsi qu'aux forces de cisaillement rencontrées dans différents environnements (Hasan & Aggarwal, 2025).

En revanche, la capacité de la matrice extracellulaire à retenir l'eau dépend étroitement de sa composition chimique. Les groupes fonctionnels hydrophiles présents dans les polysaccharides et les protéines favorisent l'adsorption et la rétention de l'eau dans la matrice, ce qui participe à la stabilité structurale du biofilm (Wu *et al.*, 2022).

De ce fait, l'eau représente un composant essentiel de la matrice extracellulaire des biofilms. En contribuant à la structuration du biofilm, au transport des molécules et aux propriétés mécaniques de la matrice, elle joue un rôle déterminant dans la stabilité et le fonctionnement des communautés microbiennes (Hasan & Aggarwal, 2025; Flemming *et al.*, 2023).

1.2.3.Hétérogénéité physiologique au sein du biofilm : Les biofilms bactériens représentent des structures complexes au sein desquelles les cellules ne présentent pas toutes les mêmes caractéristiques physiologiques. En effet, les bactéries qui composent ces communautés peuvent adopter différents états métaboliques en fonction de leur position dans la structure du biofilm et des conditions environnementales locales. Les variations de disponibilité en nutriments, en oxygène ou en autres facteurs physico-chimiques conduisent ainsi à la formation de microenvironnements distincts qui influencent l'activité et le comportement des cellules bactériennes (Obando & Serra, 2024; Jo *et al.*, 2022).

L'organisation tridimensionnelle du biofilm favorise également l'apparition de gradients chimiques et physiques au sein de la communauté microbienne. Par exemple, les bactéries situées dans les couches externes du biofilm consomment rapidement les nutriments et l'oxygène disponibles, ce qui entraîne une diminution progressive de ces ressources dans les zones plus profondes. Ces différences de conditions environnementales conduisent à l'émergence de sous-populations bactériennes présentant des activités métaboliques distinctes et contribuent à la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne (Evans *et al.*, 2023; Jo *et al.*, 2022).

En outre, les interactions entre les cellules et la structuration spatiale du biofilm participent à la différenciation physiologique des populations bactériennes. Certaines cellules peuvent ainsi adopter des états physiologiques particuliers en réponse aux contraintes locales ou aux mécanismes de régulation génétique. Cette organisation spatiale et fonctionnelle joue un rôle essentiel dans le comportement collectif des micro-organismes et dans leur capacité d'adaptation aux conditions environnementales changeantes (Miranda *et al.*, 2025; Zhang *et al.*, 2022).

Par ailleurs, l'hétérogénéité physiologique des biofilms constitue un facteur important expliquant leur tolérance accrue aux agents antimicrobiens. La présence de cellules présentant des niveaux d'activité métabolique variables peut limiter l'efficacité des traitements et favoriser la persistance de certaines bactéries au sein de la matrice du biofilm. (Obando & Serra, 2024; Bridier & Briandet, 2022).

I.3. Étapes de formation du biofilm

La formation du biofilm correspond à un processus évolutif au cours duquel les bactéries passent progressivement d'un état libre à une organisation communautaire structurée à la surface d'un support. Ce développement s'effectue selon plusieurs étapes successives comprenant l'adhésion initiale des cellules, leur fixation durable, la maturation du biofilm puis la dispersion des bactéries vers d'autres environnements. Chacune de ces étapes dépend de nombreux facteurs biologiques et environnementaux qui influencent l'organisation et la stabilité de la communauté microbienne (Olaimat *et al.*, 2024; Sauer *et al.*, 2022).

I.3.1. Adhésion réversible : L'adhésion réversible constitue la première étape du processus de formation du biofilm. Au cours de cette phase, les bactéries entrent en contact avec une surface sans établir immédiatement une fixation permanente. Les interactions entre les cellules bactériennes et le support sont principalement régies par des forces physico-chimiques telles que les interactions électrostatiques, les forces de Van der Waals et les interactions hydrophobes. Ces interactions temporaires permettent aux bactéries d'explorer la surface avant la mise en place d'un attachement plus stable (Liu *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2022) (**Figure 3, A**)

Dans les environnements agroalimentaires, cette phase joue un rôle essentiel dans l'initiation des biofilms sur les équipements de transformation. Les surfaces fréquemment utilisées dans l'industrie, comme l'acier inoxydable, le polyéthylène ou le polystyrène, peuvent favoriser l'adhésion de plusieurs bactéries pathogènes, notamment *Escherichia coli*, *Salmonella Enteritidis* et *Campylobacter jejuni*. Différentes études ont montré que ces microorganismes possèdent une forte capacité d'attachement à ces matériaux, ce qui favorise la contamination croisée au sein des chaînes de production alimentaire (Carvalho *et al.*, 2023; Ciolacu *et al.*, 2022).

Les propriétés des surfaces influencent également l'efficacité de cette adhésion initiale. La rugosité, l'hydrophobicité ainsi que la composition chimique des matériaux modifient les interactions entre les bactéries et le substrat. Les surfaces présentant des irrégularités ou certaines caractéristiques physico-chimiques peuvent offrir des conditions favorables à la fixation bactérienne. À l'inverse, des matériaux modifiés ou dotés de propriétés antimicrobiennes peuvent limiter l'attachement des cellules et réduire les premières étapes de développement du biofilm (Mu *et al.*, 2023; Ciolacu *et al.*, 2022).

Dans les industries agroalimentaires, les surfaces de travail sont souvent recouvertes d'un film de conditionnement constitué de résidus organiques provenant des aliments transformés, notamment des protéines, des lipides et d'autres composés nutritifs. Cette couche modifie les propriétés de la surface et crée un environnement favorable à l'adhésion bactérienne. La richesse nutritionnelle de ce film peut stimuler l'activité métabolique des microorganismes et faciliter leur fixation ainsi que le début de la colonisation microbienne (Liu *et al.*, 2023 ; Pérez-Alonso *et al.*, 2023).

Les conditions environnementales présentes dans les systèmes de transformation alimentaire influencent également les phénomènes d'adhésion bactérienne. Les forces de cisaillement générées par l'écoulement des liquides, de même que les propriétés rhéologiques du milieu, peuvent agir sur les mécanismes d'attachement et de détachement des cellules bactériennes. Ces paramètres interviennent dans la stabilité des interactions initiales et conditionnent ainsi l'établissement du biofilm sur les surfaces industrielles (Adeboye *et al.*, 2024).

I.3.2.Adhésion irréversible: Après la phase d'adhésion réversible, certaines cellules bactériennes établissent une interaction plus stable et durable avec la surface, conduisant à l'étape dite d'adhésion irréversible. À ce stade, les micro-organismes commencent à synthétiser des substances polymériques extracellulaires (EPS) qui facilitent leur ancrage permanent et favorisent l'agrégation cellulaire. Cette transition correspond au passage d'un contact temporaire

à une fixation solide des bactéries sur la surface (Olaimat *et al.*, 2024; Sauer *et al.*, 2022). **(Figure 3, B)**

La formation de la matrice extracellulaire constitue un élément essentiel de cette étape. Les EPS, composées principalement de polysaccharides, de protéines, de lipides et d'ADN extracellulaire, assurent la cohésion entre les cellules et renforcent leur attachement au support. Cette matrice joue également un rôle protecteur en limitant l'action des agents antimicrobiens et en favorisant la survie des bactéries dans les environnements agroalimentaires (Olaimat *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2023).

Dans les installations de transformation alimentaire, l'adhésion irréversible est fortement influencée par les propriétés des surfaces en contact avec les aliments, telles que l'acier inoxydable ou certains matériaux polymériques. Des études ont montré que les bactéries peuvent rapidement passer d'une adhésion initiale à une fixation stable, ce qui facilite la formation précoce de biofilms sur les surfaces industrielles (Akter *et al.*, 2025; Ciolacu *et al.*, 2022).

Au cours de cette phase, les cellules bactériennes commencent également à se multiplier et à former de petites agrégations appelées microcolonies. Ces structures représentent les premières organisations du biofilm et constituent une étape intermédiaire avant le développement d'une architecture tridimensionnelle plus complexe lors de la phase de maturation (Akter *et al.*, 2025; Sauer *et al.*, 2022).

I.3.3.Maturation: La phase de maturation correspond à une étape avancée du développement du biofilm au cours de laquelle les microcolonies bactériennes évoluent vers une structure plus dense, organisée et stable. Cette évolution s'accompagne d'une augmentation importante de la biomasse microbienne ainsi que d'une production accrue (EPS) formant la matrice entourant les cellules bactériennes. Cette matrice joue un rôle essentiel dans la cohésion et le maintien de la structure biofilmique, en particulier sur les surfaces rencontrées dans les environnements agroalimentaires (Akter *et al.*, 2025; Liu *et al.*, 2023) **(Figure 3, C).**

Au cours de cette étape, le biofilm développe progressivement une architecture tridimensionnelle complexe. Les bactéries s'organisent en agrégats cellulaires insérés dans une matrice extracellulaire composée de différents constituants organiques. Cette organisation favorise l'apparition de pores et de canaux internes assurant la circulation des nutriments, de l'eau et des composés métaboliques à l'intérieur du biofilm. Ces échanges contribuent au maintien de l'activité cellulaire et à la survie des microorganismes dans différentes conditions environnementales (Akter *et al.*, 2025; Shineh *et al.*, 2023).

La maturation du biofilm est également contrôlée par des mécanismes de communication cellulaire. Les bactéries utilisent notamment des systèmes de quorum sensing basés sur la synthèse et la détection de molécules signal permettant de coordonner l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'organisation et la consolidation de la communauté microbienne. Cette régulation collective favorise l'adaptation des bactéries aux variations de l'environnement et participe à la stabilité du biofilm mature (Biswas *et al.*, 2025; Zhang *et al.*, 2023).

À ce stade de développement, les biofilms présentent généralement une tolérance élevée aux agents antimicrobiens ainsi qu'aux procédés de nettoyage et de désinfection employés dans l'industrie agroalimentaire. La matrice extracellulaire limite la pénétration des substances antimicrobiennes, tandis que l'organisation physiologique des cellules favorise la mise en place de mécanismes d'adaptation au stress. Cette résistance contribue à la persistance des biofilms sur les surfaces industrielles et représente une source importante de contamination dans les unités de transformation alimentaire (Liu *et al.*, 2023; Shineh *et al.*, 2023).

I.3.4.Dispersion: La dispersion correspond à la phase terminale du développement du biofilm. Au cours de cette étape, une partie des cellules bactériennes se détache de la structure biofilmique et retrouve un état planctonique. Ce mécanisme favorise la dissémination des microorganismes dans l'environnement ainsi que la colonisation de nouvelles surfaces, contribuant ainsi à l'expansion des biofilms dans différents milieux, notamment dans les environnements agroalimentaires (Li *et al.*, 2025; Sun *et al.*, 2025) (**Figure 3, D**).

Le détachement des bactéries peut être influencé par plusieurs facteurs environnementaux. Les variations de disponibilité des nutriments, les modifications des conditions physico-chimiques du milieu ou encore les contraintes mécaniques peuvent favoriser la libération des cellules à partir du biofilm. Dans les industries agroalimentaires, certaines opérations telles que les mouvements de fluides, la découpe ou la manipulation des produits peuvent provoquer la dispersion de cellules bactériennes et faciliter leur transfert vers d'autres surfaces, augmentant ainsi les risques de contamination croisée (Li *et al.*, 2025; Kwok *et al.*, 2022).

Sur le plan biologique, la dispersion s'accompagne souvent d'une altération progressive de la matrice extracellulaire assurant la cohésion du biofilm. La synthèse d'enzymes capables d'hydrolyser différents constituants de cette matrice, notamment les polysaccharides, les protéines et l'ADN extracellulaire, contribue à la désorganisation de la structure biofilmique et à la libération des cellules bactériennes. En parallèle, l'inactivation de certains mécanismes impliqués dans l'adhésion et le maintien du biofilm peut également favoriser le détachement cellulaire. Ces phénomènes représentent aujourd'hui des cibles importantes dans le

développement de nouvelles approches de contrôle des biofilms (Sun *et al.*, 2025; Wang *et al.*, 2023).

Dans les environnements agroalimentaires, les bactéries libérées après dispersion peuvent présenter des capacités d'adaptation leur permettant de survivre et de coloniser rapidement de nouvelles surfaces. Cette dissémination participe à la propagation des microorganismes au sein des installations industrielles et constitue un facteur important dans les phénomènes de contamination microbiologique. L'étude des mécanismes impliqués dans cette étape demeure donc essentielle pour mieux comprendre la dynamique des biofilms et renforcer les stratégies de maîtrise appliquées dans l'industrie alimentaire (Li *et al.*, 2025 ; Sun *et al.*, 2025).

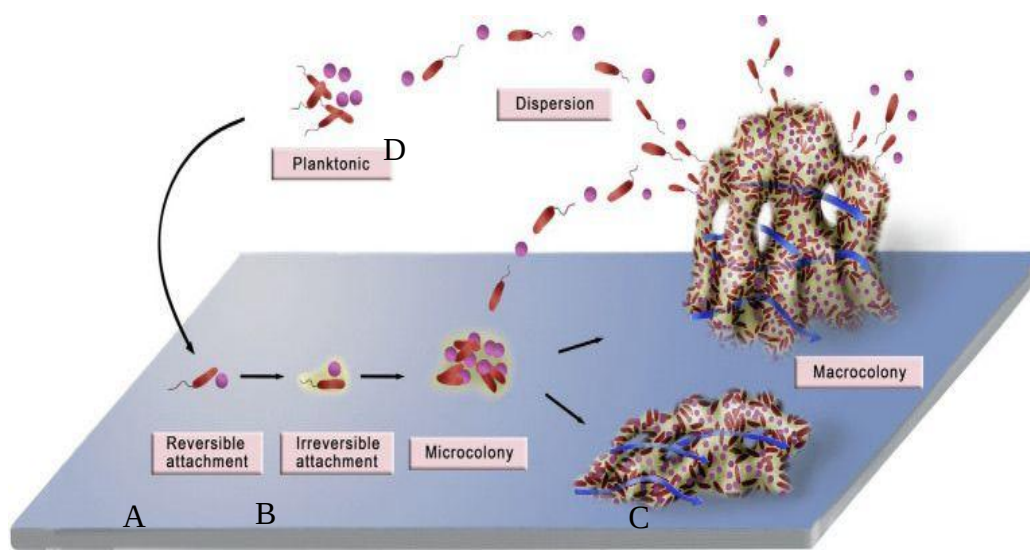


Figure 2: les étapes de formation des biofilms (luo *et al.*, 2022)

I.4. Mécanismes moléculaires impliqués

La formation des biofilms résulte de l'intervention de plusieurs mécanismes moléculaires permettant aux bactéries d'adhérer aux surfaces, de communiquer entre elles et de s'organiser en communautés structurées. Ces mécanismes reposent notamment sur l'action de différentes structures de surface et de molécules d'adhésion qui facilitent les interactions entre les cellules bactériennes et leur environnement. Les fimbriae, les flagelles ainsi que certaines protéines membranaires jouent un rôle déterminant dans les premières étapes de colonisation et dans le maintien de l'organisation du biofilm. Dans les environnements agroalimentaires, ces facteurs favorisent l'installation et la persistance des bactéries sur les surfaces de transformation, ce qui représente un enjeu important pour la qualité microbiologique et la sécurité sanitaire des aliments (Olaimat *et al.*, 2024; Shineh *et al.*, 2023).

I.4.1.Facteurs d'adhésion : L'adhésion bactérienne Constitue une étape déterminante dans l'initiation des biofilms, car elle permet aux cellules de se fixer aux surfaces avant de former une

communauté structurée. Cette fixation dépend principalement de plusieurs structures cellulaires, notamment les fimbriales les flagelles et les protéines de surface, qui facilitent le contact initial avec les substrats et favorisent la Colonisation durable des surfaces agroalimentaires (Bon Cucerzon *et al.*, 2025; Olimat *et al.*; 2024).

I.4.1.1 Fimbriae: Ce sont des structures filamenteuses localisées à la surface de nombreuses bactéries et jouent un rôle déterminant dans les premières étapes de l'adhésion aux surfaces biotiques ou abiotiques. Ces appendices protéiques permettent aux cellules bactériennes d'établir des interactions spécifiques avec différents substrats, favorisant ainsi l'attachement initial et la colonisation des surfaces, notamment dans les environnements liés à la transformation et à la manipulation des aliments (Corcionivoschi *et al.*, 2025; Kim *et al.*, 2022).

Parmi ces structures, certaines fimbriae, telles que les curli fimbriae, sont particulièrement impliquées dans les processus d'adhésion et dans la structuration du biofilm. Chez *Escherichia coli*, l'expression de ces fimbriae est souvent associée à la production de composants extracellulaires, comme la cellulose, qui participent à la formation et à la stabilisation de la matrice du biofilm (Fang *et al.*, 2022).

En industrie agro-alimentaires, les fimbriae contribuent également à la capacité de certaines bactéries pathogènes à persister sur diverses surfaces utilisées lors des opérations de transformation ou de stockage des aliments. En facilitant l'attachement et l'agrégation des cellules bactériennes, ces structures favorisent l'établissement et le maintien du biofilm, ce qui peut accroître le risque de contamination des produits alimentaires et rendre les opérations de nettoyage et de désinfection plus difficiles à réaliser efficacement (Corcionivoschi *et al.*, 2025; Kim *et al.*, 2022).

I.4.1.2 Flagelles : Les flagelles sont des structures filamenteuses présentes à la surface de nombreuses bactéries et jouent un rôle important dans leur capacité de déplacement. Au-delà de leur fonction motrice, ces appendices participent également aux premières interactions entre les cellules bactériennes et les surfaces environnantes. La motilité qu'ils confèrent permet aux bactéries de se rapprocher des substrats et d'explorer leur environnement, facilitant ainsi les premières étapes de l'adhésion et la colonisation de nouvelles niches écologiques (Vilas Boas *et al.*, 2024; Chhibber & Zgair, 2022).

Dans les environnements agro-alimentaires, la motilité flagellaire intervient particulièrement lors des phases initiales de formation du biofilm. Une étude menée sur *Escherichia coli* O157:H7 a montré que les flagelles contribuent à l'adhésion des bactéries sur différentes surfaces, notamment l'acier inoxydable, le verre et certains produits végétaux frais, ce

qui souligne leur implication dans les phénomènes de contamination des surfaces en contact avec les aliments (Zhai *et al.*, 2024).

Sur le plan moléculaire, plusieurs gènes impliqués dans l'assemblage et le fonctionnement du flagelle participent également aux mécanismes d'adhésion et de colonisation bactérienne. Par exemple, le gène *flgK*, impliqué dans la structure du complexe flagellaire, influence la motilité des bactéries ainsi que leur capacité d'adhésion et d'invasion cellulaire chez certaines espèces pathogènes d'intérêt alimentaire (Li *et al.*, 2023).

Par ailleurs, différentes études indiquent que la perturbation ou l'inhibition de la motilité flagellaire peut réduire la capacité d'adhésion bactérienne et limiter les premières étapes du développement du biofilm. Ces observations confirment que les flagelles jouent un rôle essentiel dans la transition entre l'état planctonique et l'établissement de communautés bactériennes structurées à la surface des substrats (Jiang *et al.*, 2025; Vilas Boas *et al.*, 2024).

I.4.1.3 Protéines de surface : Les protéines de surface jouent un rôle essentiel dans l'adhésion des bactéries aux surfaces biotiques et abiotiques. En permettant des interactions spécifiques entre les cellules bactériennes et leur environnement, elles facilitent l'attachement initial aux différents substrats et favorisent l'installation des microorganismes sur les surfaces. Cette étape représente un processus fondamental dans l'initiation de la formation des biofilms, en particulier dans les environnements agroalimentaires où les surfaces de transformation peuvent constituer des sites propices à la colonisation bactérienne (Olaimat *et al.*, 2024; Shineh *et al.*, 2023).

Certaines de ces protéines appartiennent à la famille des MSCRAMMS (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules). Ces molécules sont capables de reconnaître et de se fixer à différents composés présents dans la matrice extracellulaire ou à la surface des matériaux. Grâce à ces interactions, les bactéries peuvent adhérer plus efficacement aux surfaces alimentaires et persister dans les installations de transformation des aliments. Plusieurs gènes impliqués dans la synthèse de ces protéines d'adhésion ont d'ailleurs été identifiés chez des bactéries isolées de produits alimentaires prêts à consommer (Chajęcka-Wierzchowska *et al.*, 2023).

Dans les environnements industriels, les protéines de surface participent également à l'adhésion des bactéries aux matériaux utilisés dans les équipements de transformation alimentaire. Cette propriété favorise l'établissement et le maintien des biofilms sur les surfaces de contact, ce qui peut contribuer à des contaminations persistantes et réduire l'efficacité des opérations de nettoyage et de désinfection (Olaimat *et al.*, 2024; Zhu *et al.*, 2022).

Par ailleurs, certaines protéines membranaires interviennent directement dans l'organisation structurale du biofilm. Chez *Vibrio cholerae*, par exemple, la protéine OmpU participe à l'assemblage de la matrice extracellulaire et contribue à la stabilité du biofilm en renforçant les interactions entre les cellules bactériennes et leur support d'adhésion (Cucerzan *et al.*, 2025; Potapova *et al.*, 2024 ; Olaimat *et al.*, 2024).

Ainsi, les protéines de surface interviennent dans plusieurs mécanismes impliqués dans le développement des biofilms, notamment l'adhésion initiale, l'organisation cellulaire et le maintien de la structure biofilmique.

I.4.2.Communication cellulaire (quorum sensing): Le quorum sensing (QS) correspond à un système de communication bactérienne permettant aux cellules de coordonner collectivement certaines fonctions biologiques en fonction de la densité de population. Ce mécanisme repose sur la production et la détection de petites molécules signal appelées auto-inducteurs, dont l'accumulation dans l'environnement déclenche une réponse génétique coordonnée lorsque leur concentration atteint un seuil critique (Ding *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2020).

Ce système de régulation intervient dans de nombreux processus physiologiques, notamment la formation du biofilm, l'expression des facteurs de virulence et l'adaptation aux contraintes environnementales. Chez les bactéries pathogènes d'origine alimentaire, le QS contrôle l'expression de gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire et la production de la matrice extracellulaire, facilitant ainsi la persistance des microorganismes dans les environnements de transformation et de stockage des aliments (Ding *et al.*, 2024).

Chez certaines espèces telles que *Listeria monocytogenes*, plusieurs systèmes de signalisation, notamment les systèmes Agr et LuxS, participent à la régulation des gènes associés à la virulence et à la formation du biofilm. L'activité de ces systèmes peut être modulée par différents facteurs environnementaux, tels que la température, la disponibilité des nutriments ou l'exposition à des agents désinfectants, permettant ainsi aux bactéries d'adapter leur comportement aux conditions rencontrées dans les environnements alimentaires (Pang *et al.*, 2025).

De manière comparable, chez les bactéries du genre *Salmonella*, les systèmes de QS contribuent à la régulation de la formation des biofilms ainsi qu'à la réponse aux stress environnementaux. Cette régulation favorise la survie et la persistance des bactéries sur les surfaces et dans les matrices alimentaires, ce qui représente un défi important pour la sécurité alimentaire (Mi *et al.*, 2024).

En raison de son rôle central dans la régulation de la formation du biofilm, le QS constitue également une cible prometteuse pour le développement de nouvelles stratégies de contrôle. Plusieurs composés naturels, tels que l'eugénol ou la mangiférine, ont montré une capacité à perturber les systèmes de communication bactérienne, entraînant une réduction de l'expression des facteurs de virulence et de la formation des biofilms (Al-Shabib *et al.*, 2025; Ribeiro *et al.*, 2024).

Certaines bactéries bénéfiques, notamment les bactéries lactiques utilisées dans les procédés fermentaires, peuvent également interférer avec les systèmes de signalisation du QS. Ces micro-organismes produisent des métabolites capables d'inhiber les molécules signal de type AHL, limitant ainsi la formation de biofilms chez certaines bactéries pathogènes et ouvrant des perspectives intéressantes pour le contrôle biologique dans l'industrie agro-alimentaire (Savijoki *et al.*, 2022).

1.4.3. Régulation génétique de la formation du biofilm : La formation du biofilm chez les bactéries est contrôlée par des mécanismes de régulation génétique complexes qui orchestrent l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire, la production de la matrice extracellulaire et la persistance des microorganismes dans différents environnements. Cette régulation permet aux bactéries d'adapter leur comportement aux conditions environnementales et de favoriser l'établissement de communautés microbiennes structurées sur diverses surfaces (Alsuwat *et al.*, 2025).

Plusieurs études ont mis en évidence le rôle important des petits ARN non codants (SRNA) dans la régulation de la formation du biofilm. Ces molécules interviennent principalement dans la régulation post-transcriptionnelle de gènes impliqués dans différents processus biologiques, notamment la virulence, la motilité et la capacité des bactéries à former des biofilms (Zhang *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2022).

En outre, des analyses génomiques réalisées sur des souches bactériennes isolées dans des environnements de transformation alimentaire ont permis d'identifier plusieurs gènes associés à la formation et à la persistance des biofilms. Parmi ces gènes figurent notamment ceux impliqués dans la production de structures de surface telles que les curli, la synthèse de cellulose et les mécanismes de motilité bactérienne, qui contribuent à la stabilité et au développement du biofilm (Afrasiabi & Partoazar, 2024 ; Yang *et al.*, 2023)

I.5. Facteurs influençant la formation du biofilm

La formation des biofilms dépend de plusieurs paramètres environnementaux capables de modifier le comportement des microorganismes et leurs interactions avec les surfaces. Parmi ces

paramètres, les facteurs physico-chimiques jouent un rôle particulièrement important puisqu'ils influencent la croissance bactérienne, l'adhésion cellulaire, la production de la matrice extracellulaire ainsi que l'organisation structurale du biofilm. Dans les environnements agroalimentaires, des variations de température, de durée d'incubation ou de pH peuvent favoriser ou limiter le développement des communautés microbiennes sur les surfaces de transformation et de stockage des aliments (Olaimat *et al.*, 2024 ; Rahman *et al.*, 2024).

I.5.1. Facteurs physico-chimiques : Les facteurs physico-chimiques jouent un rôle important dans la formation et l'évolution des biofilms bactériens car ils modifient directement les conditions de croissance d'adhésion et de survie des microorganismes. Parmi ces paramètres, la température, le temps d'incubation et le pH peuvent influencer la structure du biofilm. La production de matrice extracellulaire et la persistance des bactéries sur les surfaces agroalimentaires (Chen *et al.*, 2024; Olaimat *et al.*, 2024 ; Rahman *et al.*, 2024).

I.5.1.1 Température : La température paramètre environnemental majeur dans le développement des biofilms bactériens, agit directement sur le métabolisme et la croissance des microorganismes, influence leur aptitude à adhérer aux surfaces et à se multiplier au sein d'une communauté organisée. Les variations thermiques peuvent également modifier l'expression de certains gènes impliqués dans les mécanismes d'adhésion et dans la synthèse de la matrice extracellulaire, indispensable à la stabilité du biofilm (Javed *et al.*, 2024; Rahman *et al.*, 2024).

En industries agroalimentaires, les conditions de température peuvent favoriser ou ralentir la formation des biofilms selon les espèces bactériennes concernées et les caractéristiques du milieu. Certaines bactéries d'intérêt alimentaire, comme *Escherichia coli*, possèdent une grande capacité d'adaptation et peuvent développer des biofilms dans différentes conditions thermiques rencontrées lors de la transformation, du transport ou du stockage des aliments. Plusieurs études ont montré que la température influence non seulement la rapidité de formation du biofilm, mais aussi son épaisseur et son organisation structurale (Ghrai, 2024; Javed *et al.*, 2024; Rahman *et al.*, 2024; Toubi *et al.*, 2023).

I.5.1. 2 Temps d'incubation : Avec l'augmentation du temps de culture, les cellules déjà fixées à la surface poursuivent leur multiplication et produisent progressivement davantage de substances polymériques extracellulaires, favorisant ainsi le développement et la consolidation de la matrice du biofilm (Maurya *et al.*, 2022).

L'évolution du biofilm se fait de manière progressive au cours du temps. Après la phase initiale d'adhésion, les bactéries s'organisent progressivement en microcolonies et développent une structure plus dense et plus complexe. Cette maturation s'accompagne généralement d'une

Chapite I : Le biofilm bactérien

augmentation de la biomasse microbienne et d'une organisation tridimensionnelle plus élaborée de la communauté bactérienne (Zhao *et al.*, 2024; Maurya *et al.*, 2022). Certaines bactéries telles que *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, montrent une capacité accrue à former des biofilms lorsque la période d'incubation se prolonge. (Brahimi & Hattou, 2023).

I.5.1.3 pH: Les variations de pH peuvent affecter l'activité métabolique des microorganismes, modifier leur capacité d'adhésion aux surfaces et agir sur la production des substances polymériques extracellulaires. Certaines bactéries impliquées dans les contaminations alimentaires, comme *Listeria monocytogenes* et *Echerichia coli*, possèdent des mécanismes d'adaptation leur permettant de survivre et de former des biofilms dans des conditions de pH variables (Osek *et al.*, 2022; Saint-Martin, 2022). Le pH peut également influencer les interactions entre les différentes espèces présentes au sein des biofilms mixtes (Chen *et al.*, 2024).

Tableau 2: influence des facteurs physico-chimiques sur la formation des biofilms bactériens en agrialimentaire (Chen *et al.*, 2024 ; Javed *et al.*, 2024 ; Rahman *et al.*, 2024, Zhao *et al.*, 2024 ; Maurya *et al.*, 2022 ; Osek *et al.*, 2022) :

facteur	Impact sur la formation du biofilm
Température	Modifie le métabolisme et l'adhésion des bactéries : certaines espèces. S'adaptent a différentes conditions thermiques rencontrées lors de la transformation et du stockage des aliments.
Durée d'incubation	Favorise la maturation et l'augmentation de la biomasse des microcolonies, renforçant la structure du biofilm
PH	Influence l'activité métabolique l'adhésion cellulaire et l'organisation spatiales des communautés microbiennes.

I.5.2. Facteurs nutritionnels : La formation d'un biofilm dépend aussi des ressources nutritives disponibles dans le milieu. En effet, le source de Carbone et la composition du millier peuvent favoriser ou limite la croissance bactérienne, l'adhésion aux surface et la production de to motrice extracellulaire, ce qui influence directement l'évolution et le stabilité du biofilm (Hu *et al.*, 2025; Hu *et al.*, 2022; Maurye *et al.*, 222).

I.5.2.1 La source de carbone: Parmi les différents éléments nutritifs, les sources de carbone représentent un facteur essentiel puisqu'elles fournissent l'énergie nécessaire à la croissance cellulaire et au fonctionnement du métabolisme bactérien. Le glucose, notamment, intervient

dans plusieurs mécanismes associés à l'adhésion des cellules bactériennes et à la production de la matrice extracellulaire (Hu *et al.*, 2022).

Plusieurs travaux indiquent que la disponibilité des sources carbonées, Comme le glucose, peut modifier la capacité des bactéries à former des biofilms. Chez *Escherichia coli*, les conditions nutritionnelles du milieu influencent l'adhésion cellulaire, l'accumulation de biomasse et l'organisation de la structure du biofilm à la surface des matériaux (Hu *et al.*, 2022 ; Maurya *et al.*, 2022).

L'utilisation du glucose par les bactéries est régulée par différents systèmes métaboliques, notamment le système phosphotransférase (PTS), impliqué dans le transport et la transformation des sucres au sein de la cellule. Ce mécanisme contribue à l'adaptation des microorganismes aux variations des ressources nutritives et peut influencer leur comportement physiologique ainsi que leur aptitude à se développer en biofilm (Zeng *et al.*, 2023).

I.5.2. 2 Composition du milieu : La composition du milieu de culture incluant au biofilm la disponibilité des nutriments ainsi que la présence de composés organiques ou minéraux peuvent influencer la croissance des micro-organismes, leur capacité d'adhésion aux surfaces et la synthèse de la matrice extracellulaire caractéristique des biofilms (Hu *et al.*, 2022).

Les modifications de la composition du milieu nutritif peuvent également avoir un impact sur la dynamique de développement et l'organisation structurale des biofilms chez montre différentes espèces bactériennes. Une étude récente menée par Hu et ses collaborateurs a montré que la présence de nutriments spécifiques dans le milieu favorise la prolifération bactérienne et contribue à la formation de biofilm (Hu *et al.*, 2025).

I.5.3. Nature et propriétés des surfaces : L'acier inoxydable est un matériau largement utilisé dans l'industrie agroalimentaire en raison de sa résistance à la corrosion, de sa solidité et de sa facilité d'entretien. Toutefois, malgré ces caractéristiques, il peut constituer un support favorable à l'adhésion des microorganismes et à la formation de biofilms lorsque les conditions de croissance sont adéquates (Ciolacu *et al.*, 2022; Mazaheri *et al.*, 2022).

L'adhésion bactérienne sur les surfaces en acier inoxydable est fortement influencée propriétés physiques et chimiques de ces surfaces. Parmi ces facteurs, la rugosité de joue un rôle déterminant dans la phase initiale d'attachement des bactéries. Il a été montré que certaines rugosité de surface peuvent favoriser l'adhésion de bactéries telles que *Listeria monocytogenes*, facilitant ainsi le développement ultérieur du biofilm (Pathirajah *et al.*, 2022).

I.5.3.1 Rugosité : La rugosité de surface joue un rôle essentiel, car elle modifie les interactions physico-chimiques entre les cellules bactériennes et le support. En augmentant la surface de

contact et en créant des micro-irrégularités, la rugosité peut faciliter l'adhésion initiale des micro-organismes (Mu *et al.*, 2023).

Les surfaces présentant une rugosité plus élevée offrent davantage de zones favorables à la fixation des bactéries et peuvent également protéger les cellules microbiennes contre certaines contraintes environnementales, telles que les forces de cisaillement ou les opérations de nettoyage et de désinfections. Ces conditions favorisent la colonisation microbienne et contribuent au développement progressif du biofilm (Li *et al.*, 2023).

Dans le domaine agroalimentaire, les matériaux utilisés pour les équipements, comme l'acier inoxydable, peuvent présenter différentes caractéristiques de rugosité influençant l'adhésion bactérienne. Plusieurs études ont montré que la modification des propriétés de surface, par exemple par l'application de revêtements spécifiques, peut réduire l'adhésion microbienne et limiter ainsi la formation de biofilms sur ces surfaces (Fernández-Gómez *et al.*, 2022).

I.5.3.2 Hydrophobicité : Les caractéristiques physico-chimiques des surfaces constituent un facteur déterminant dans les étapes initiales de l'adhésion bactérienne et dans l'établissement influencour des biofilms. Parmi ces paramètres, l'hydrophobicite qui joue un rôle essentiel, en influence les interactions entre les cellules microbiennes et les matériaux. En effet, la nature hydrophobe ou hydrophile d'une surface modifie les forces d'interaction à l'interface cellule-surface, ce qui peut favoriser ou au contraire limiter l'attachement initial des bactéries (Mu *et al.*, 2023).

En général, les micro-organismes possédant une surface cellulaire hydrophobe présentent une plus grande affinité pour les surfaces de même nature, ce qui facilite leur adhésion. Toutefois, certaines surfaces présentant des propriétés superhydrophobes peuvent réduire l'attachement bactérien en diminuant la zone de contact effective entre les cellules et le substrat (Skilbeck *et al.*, 2023).

I.5.4. Film de conditionnement : Le film de conditionnement représente une étape importante avant l'adhésion bactérienne proprement dite. En effet, l'accumulation de dépôts organiques sur les surfaces modifie leurs caractéristiques initiales et crée des combitions pouvant fociliter la fixation des microorganismes et le développement ultérieur du biofilm (lim *et al.*, 2023 ; Alonso *et al.*, 2023).

I.5.4.1 Dépôts organiques : Avant que les micro-organismes ne s'attachent à une surface, celle-ci peut être rapidement recouverte par une fine couche de molécules organiques appelée film de conditionnement. Cette couche est généralement composée de différentes substances issues du milieu environnant, notamment des protéines, des lipides et d'autres macromolécules. La

formation de ce film modifie les propriétés physico-chimiques de la surface et peut influencer les interactions entre les bactéries et le substrat (Liu *et al.*, 2023).

La présence de ces dépôts organiques facilite souvent l'adhésion des micro-organismes en créant une interface favorable à leur fixation. Dans certains environnements, en particulier la dans les lignes de transformation alimentaire, l'accumulation de résidus organiques sur des surface équipements peut favoriser l'installation et le développement des biofilms (Perez Alonso *et al.*, 2023).

Ces films organiques peuvent également jouer un rôle dans les étapes ultérieures du développement du biofilm, tout en fournissant des nutriments ou en modifiant les interactions entre les cellules bactériennes et la surface. La composition et la nature de ces dépôts conditionnent ainsi la colonisation microbienne et la stabilité des biofilms (Liu *et al.*, 2023 ; Perez Alonso *et al.*, 2023).

I.5.4.2 Modification des propriétés de surface : Lorsqu'une surface solide entre en contact avec un milieu liquide, différentes molécules organiques et substances polymériques peuvent s'y adsorber rapidement, conduisant à la formation d'un film de conditionnement. Cette couche modifie les propriétés physico-chimiques de la surface, notamment l'hydrophobicité, la charge électrique et l'énergie de surface, ce qui influence directement les interactions entre les micro-organismes et le matériau. Ces changements jouent un rôle important dans les premières étapes de l'adhésion bactérienne et dans l'initiation de la formation du biofilm (Talluri *et al.*, 2021).

Les (EPS) sécrétées par certaines bactéries peuvent également participer à la constitution de ce film. Leur accumulation à l'interface solide- liquide peut modifier plusieurs paramètres de surface, tels que l'angle de contact ou le potentiel zêta, ce qui influence la capacité des cellules bactériennes à s'attacher au substrat. Selon les caractéristiques du milieu et des micro-organismes impliqués, cette couche peut ainsi favoriser ou limiter l'adhésion microbienne et par conséquent la formation de biofilm (Wang *et al.*, 2025).

Dans le domaine agroalimentaire, les surfaces peuvent également être recouvertes de fines couches liquides contenant des composés organiques et des nutriments. Même lorsque les surfaces paraissent sèches à l'œil nu, ces microfilms favorisent l'adhésion des micro- organismes et facilitent l'établissement de biofilms persistants. (Perez-Alonso *et al.*, 2023).

I.6. Importance des biofilms en industrie agroalimentaire

Les biofilms occupent une place importante dans les problématiques microbiologiques rencontrées au sein des industries agroalimentaires. Leur aptitude à se développer sur différentes

Chapite I : Le biofilm bactérien

surfaces de transformation et à persister malgré les opérations Le nettoyage et de désinfections favorise la contamination des équipements et des produits alimentaires. De ce fait, ils représentent à la fois un risque sanitaire et une source de pertes économiques pour les industries de transformation alimentaire (Ban-Cucerzan *et al.*, 2025 ;Olaimat *et al.*, 2024).

Dans les environnements agroalimentaires, les équipements et les installations de series: Dans les environnements agros à l'adres, lon des microorganismes et au développement des biofilms. Les bactéries peuvent coloniser différents types de matériaux couramment utilisés dans les chaînes de transformation, notamment l'acier inoxydable, les polymères ou encore les surfaces plastiques, ce qui favorise l'installations durable des biofilms (Carvalho *et al.*, 2023; Dula *et al.*, 2021).

L'adhésion initiale constitue une étape essentielle dans l'établissement du biofilm. Plusieurs bactéries impliquées dans les contaminations alimentaires, telles que *Salmonella*, *Escherichia coli* et *Campylobacter jejuni*, possèdent des mécanismes leur permettant de se fixer efficacement aux surfaces de contact alimentaire grâce à différentes structures d'adhésion et à la production de substances polymériques extracellulaires (Carvalho *et al.*, 2023; Ciolacu *et al.*, 2022).

Les conditions physicochimiques présentes dans les ateliers de transformation influencent également la formation des biofilms. La disponibilité des nutriments, l'humidité, ainsi que les propriétés des matériaux peuvent favoriser leur installation et leur maturation. Dans de telles conditions, les surfaces de transformation peuvent devenir des réservoirs microbiens contribuant à la persistance des bactéries et aux phénomènes de contamination croisée au cours des procédés de fabrication (Olaimat *et al.*, 2024; Dula *et al.*, 2021).

Dans certains secteurs agroalimentaires caractérisés par une faible activité de l'eau, des biofilms peuvent également se développer sur des surfaces apparemment sèches. Malgré des conditions moins favorables à la croissance bactérienne, ces structures microbiennes peuvent persister durablement et représenter une source potentielle de contamination des aliments (Pérez-Alonso *et al.*, 2023).

Dans l'industrie laitière, les biofilms observés sur les équipements sont fréquemment composés de plusieurs espèces microbiennes associées entre elles. Cette organisation complexe favorise les interactions cellulaires et améliore la capacité d'adaptation des microorganismes aux contraintes environnementales ainsi qu'aux traitements de nettoyage et de désinfection (Yuan *et al.*, 2025; cherif anntar *et al.*, 2016)

Dans les industries de transformation alimentaire, les biofilms représentent une difficulté majeure pour les procédures de nettoyage et de désinfection. Les cellules bactériennes incluses

dans la matrice extracellulaire bénéficient d'une protection qui réduit l'efficacité des agents antimicrobiens (Pérez-Alonso *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2021).

Cette organisation favorise également l'apparition de mécanismes de tolérance aux désinfectants. Plusieurs phénomènes peuvent être impliqués, notamment des modifications de la membrane cellulaire, l'activation de systèmes d'efflux ou certaines adaptations physiologiques et génétiques permettant aux bactéries de résister aux traitements appliqués de manière répétée (Pérez-Alonso *et al.*, 2024; Bland *et al.*, 2022).

Les systèmes de nettoyage en place (NEP ou CIP), largement utilisés dans les industries agroalimentaires, reposent sur l'utilisation de solutions chimiques et de traitements thermiques destinés à éliminer les contaminants présents sur les équipements. Cependant, les biofilms peuvent persister malgré ces procédures et constituer des sources récurrentes de contamination des produits alimentaires (Pant *et al.*, 2023).

Les biofilms retrouvés dans ces environnements sont souvent composés de plusieurs espèces bactériennes interagissant entre elles. Cette diversité microbienne contribue à renforcer la stabilité du biofilm et augmente sa tolérance vis-à-vis des désinfectants, ce qui rend leur réduction et/ou élimination plus complexe (Li *et al.*, 2021).

En plus des risques microbiologiques, les biofilms peuvent également être à l'origine de phénomènes de corrosion et de colmatage des équipements industriels. Certaines activités métaboliques bactériennes favorisent la détérioration progressive des surfaces métalliques, tandis que l'accumulation de biomasse microbienne peut obstruer les conduites et perturber le fonctionnement des systèmes de circulation des fluides. Ces altérations peuvent réduire les performances des installations et entraîner des coûts supplémentaires liés à la maintenance et aux arrêts de production (Dawan *et al.*, 2025; Nkemngong & Teska, 2024).

Les biofilms microbiens représentent une problématique importante dans les industries agroalimentaires en raison de leur capacité à favoriser la survie et la persistance des microorganismes sur les surfaces de transformation et les équipements de production. Les bactéries organisées sous forme de biofilm peuvent subsister durablement dans les environnements industriels et devenir une source continue de contamination des aliments (Liu *et al.*, 2023; Sharan *et al.*, 2022).

Ils peuvent abriter plusieurs microorganismes pathogènes impliqués dans les maladies d'origine alimentaire, notamment *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* et *Staphylococcus aureus* (Liu *et al.*, 2023; Dass & Wang, 2022).

Chapite I : Le biofilm bactérien

Les contaminations répétées peuvent entraîner l'altération des produits, le rappel de tots commercialisés ainsi que des pertes financières considérables, tout en affectant la confiance des consommateurs et l'image des industries concernées (Ban-Cucerzan *et al.*, 2025; Sharan *et al.*, 2022).



Chapitre II :

***Escherichia coli* et sa capacité de formation du biofilm**



II.1. Généralités sur *Escherichia coli*

Escherichia coli est l'une des bactéries les plus étudiées en microbiologie en raison de sa grande diversité génétique, de sa capacité d'adaptation et de son implication dans les contaminations alimentaires. Dans les environnements agroalimentaires, certaines souches sont capables d'adhérer aux surfaces et de former des biofilms persistants sur les équipements de transformation, ce qui représente un enjeu important pour la sécurité sanitaire des aliments. La compréhension des caractéristiques biologiques et des mécanismes de formation du biofilm chez *E. coli* est donc essentielle pour mieux appréhender sa persistance dans les chaînes de production alimentaire et développer des stratégies efficaces de contrôle microbiologique (Ban-Cucerzan *et al.*, 2025; Sadeghzadeh *et al.*, 2024).

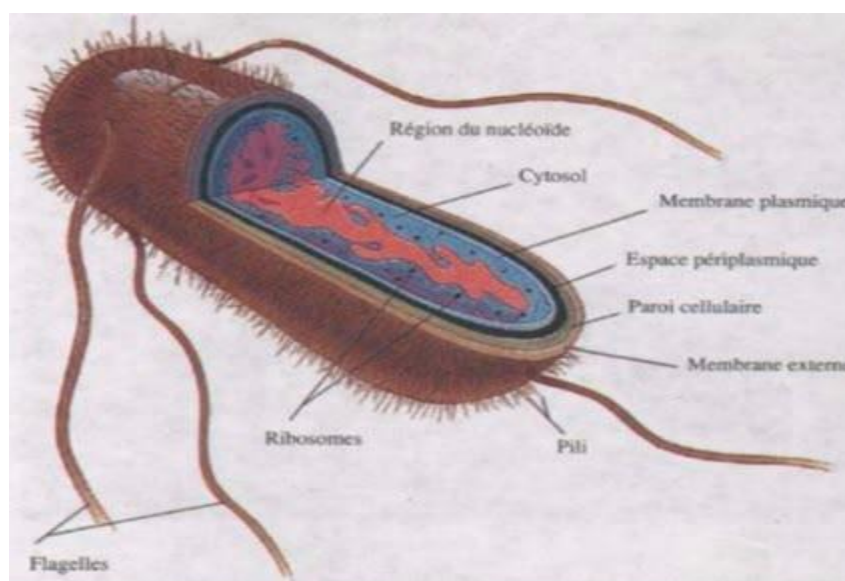


Figure 3: Ultrastructure de la bactérie *Escherichia coli* (Horton *et al.*, 1994)

II.1.1. Taxonomie et classification: *Escherichia coli* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, qui regroupe des bactéries à Gram négatif largement présentes dans le tractus intestinal des animaux et de l'Homme (ANSES, 2024). Sa classification a longtemps reposé sur des critères phénotypiques et biochimiques, mais les avancées récentes en biologie moléculaire ont permis d'affiner considérablement sa taxonomie. L'analyse des génomes a notamment mis en évidence une grande diversité génétique au sein de l'espèce, ainsi que des relations phylogénétiques étroites avec certains genres proches, tels que *Shigella*, remettant en question certaines distinctions classiques (Cobo-Simón *et al.*, 2023).

Sur le plan phylogénétique, *E. coli* se subdivise en plusieurs groupes distincts qui reflètent sa diversité évolutive et ses capacités d'adaptation à différents environnements. Par ailleurs, cette espèce est également classée en différents pathotypes, définis en fonction de

leurs facteurs de virulence et de leur implication dans diverses pathologies. Parmi les plus connus figurent les souches entérohémorragiques (EHEC) et les souches productrices de shigatoxines (STEC), particulièrement étudiées dans le contexte de la sécurité alimentaire (Alhadlaq *et al.*, 2024).

Les études récentes soulignent également l'importante variabilité génétique des souches d'*E. coli*, qui influence leur comportement biologique, leur capacité d'adaptation ainsi que leur résistance aux agents antimicrobiens (Feng *et al.*, 2023). Cette diversité met en évidence la complexité de la classification de cette bactérie et justifie l'utilisation croissante d'approches génomiques pour mieux comprendre sa taxonomie, son évolution et son rôle dans les environnements biologiques et agroalimentaires (Feng *et al.*, 2023).

II.1.2. Caractéristiques morphologiques : *Escherichia coli* est une bactérie de forme bacillaire, typique des microorganismes à Gram négatif. Cette morphologie en bâtonnet est étroitement liée à l'organisation de son enveloppe cellulaire, constituée d'une membrane interne, d'une membrane externe et d'une fine couche de peptidoglycane située dans l'espace périplasmique (Maher *et al.*, 2023; Chautrand *et al.*, 2022).

L'enveloppe cellulaire joue un rôle fondamental dans le maintien de la structure de la bactérie. Chez *E. coli*, la couche de peptidoglycane assure à la fois la rigidité nécessaire à la cellule et une certaine flexibilité, permettant le bon déroulement des processus de croissance et de division cellulaire (Oldewurtel *et al.*, 2023).

La forme bacillaire résulte de mécanismes complexes impliquant la synthèse et la réorganisation continue du peptidoglycane. Ces processus régulent l'allongement cellulaire ainsi que la division, garantissant ainsi la stabilité de la morphologie caractéristique de l'espèce (Oldewurtel *et al.*, 2023).

Plus largement, la diversité des formes observées chez les bactéries reflète des adaptations structurales spécifiques à leurs conditions de vie. Dans le cas d'*E. coli*, la forme en bâtonnet est considérée comme avantageuse pour les échanges avec le milieu environnant et pour l'organisation des activités cellulaires (Pavlova *et al.*, 2022).

Certaines souches d'*E.coli* possèdent des structures de surface, les flagelles, qui assurent leur mobilité. Ces appendices, constitués de structures protéiques organisées, permettent à la bactérie de se déplacer activement en réponse aux variations de son environnement (Minamino *et al.*, 2023).

Bien que la morphologie d'*E.coli* soit généralement stable, elle peut présenter une certaine capacité d'adaptation en fonction des conditions du milieu. Cette plasticité repose sur des ajustements au niveau de l'enveloppe cellulaire, tout en conservant les caractéristiques morphologiques essentielles de la bactérie (Maher *et al.*, 2023; Chautrand *et al.*, 2022).

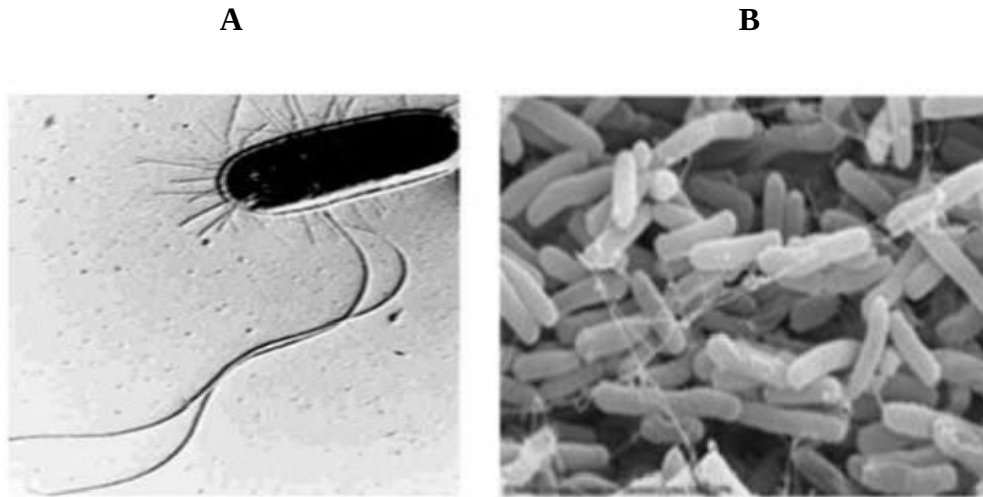


Figure 4 : micrographies électriques à balayage montrant la morphologie d'*Escherichia coli*. la forme en bâtonnet et les flagelles (A) ainsi que l'organisation cellulaire dans une colonie (B) sont clairement visibles, illustrant la structure cellulaire et les appendices de mobilité de cette bactérie Gram-négative (Buszewski *et al.*, 2007)

II.1.3 Habitat et écologie de *Escherichia coli* : *Escherichia coli* est une bactérie gram majoritairement présente dans le tractus intestinal des animaux à sang chaud ainsi que chez l'homme, où elle participe à l'équilibre de la flore microbienne. Son élimination via les matières fécales favorise sa dispersion dans l'environnement, notamment dans les sols, les eaux et les milieux associés aux activités humaines. Cette capacité de dissémination explique sa large distribution et son implication fréquente dans les phénomènes de contamination environnementale et alimentaire (Okwuanaso *et al.*, 2025; Agu *et al.*, 2024).

Dans les écosystèmes aquatiques, la présence de *E. coli* est étroitement liée aux apports d'origine anthropique, tels que les effluents urbains, agricoles ou industriels. Ces rejets contribuent à la contamination des eaux de surface et influencent la dynamique de la bactérie, qui peut persister et être transportée sur de longues distances. Ainsi, *E. coli* est couramment utilisée comme indicateur de pollution fécale dans ces milieux (Rodriguez Arguelles, 2024).

Les sols agricoles représentent également un réservoir potentiel pour cette bactérie, en particulier lorsqu'ils sont amendés avec des matières organiques d'origine animale. Bien que

ces pratiques améliorent la fertilité des sols, elles peuvent également introduire des microorganismes pathogènes et favoriser leur maintien dans l'environnement. Dans ce contexte, *E. coli* peut interagir avec la microflore du sol et être transférée vers les cultures, ce qui constitue un enjeu important pour la sécurité sanitaire des aliments (Omar *et al.*, 2025).

Dans les environnements de transformation agroalimentaire, notamment dans les abattoirs et les unités de découpe, l'écologie microbienne est influencée par de multiples sources de contamination. Les animaux, l'eau, l'air ambiant et les opérateurs contribuent à l'introduction et à la circulation des bactéries. Par ailleurs, les conditions de traitement, telles que les basses températures ou les interventions antimicrobiennes, exercent des pressions sélectives susceptibles de favoriser l'installation de communautés microbiennes spécifiques sur les surfaces de travail (Yang *et al.*, 2024).

Les manipulateurs d'aliments constituent un maillon essentiel dans la transmission d'*E. coli*. Le portage intestinal, souvent asymptomatique, peut être à l'origine de contaminations croisées au cours des différentes étapes de manipulation des denrées alimentaires. Cela souligne l'importance du respect des règles d'hygiène et de la mise en place de mesures préventives adaptées afin de limiter les risques de transmission (Okwuanaso *et al.*, 2025).

II.2. Facteurs de virulence et mécanismes d'adhésion

La formation des biofilms chez *Escherichia coli* repose sur l'implication de plusieurs facteurs de virulence incluant l'adhésion, la mobilité et l'organisation des communautés bactériennes. Ces mécanismes favorisent la colonisation de différentes surfaces, notamment celles utilisées dans les environnements agroalimentaires comme l'acier inoxydable, le plastique ou le verre. Les fimbriae, les curli, les flagelles ainsi que les polysaccharides extracellulaires jouent un rôle essentiel dans les différentes étapes du développement du biofilm, depuis l'adhésion initiale jusqu'à la maturation de la structure microbienne. Dans ce type industries, ces facteurs contribuent à la persistance des bactéries sur les équipements de transformation et renforcent leur tolérance face aux opérations de nettoyage et de désinfection, ce qui représente un enjeu menaçant la sécurité sanitaire des aliments (Ban-Cucerzan *et al.*, 2025 ; Elafify *et al.*, 2024 ; Sadeghzadeh *et al.*, 2024).

II.2.1 Fimbriae et adhésines : Les fimbriae, également appelées pili, sont des structures filamenteuses localisées à la surface des bactéries à Gram négatif et jouent un rôle essentiel dans les mécanismes d'adhésion bactérienne. Chez *Escherichia coli*, ces appendices favorisent l'attachement aux surfaces abiotiques, notamment aux matériaux couramment utilisés dans les environnements agroalimentaires tels que l'acier inoxydable, le verre ou les polymères. Ils

interviennent ainsi dans les premières étapes de la colonisation des surfaces et dans l'initiation du processus de formation du biofilm (Van Nederveen *et al.*, 2025; Habouria *et al.*, 2022).

Parmi les différentes structures fimbriales, les fimbriae de type 1 figurent parmi les plus étudiées chez *E. coli*. Elles participent aux interactions initiales entre les cellules bactériennes et les surfaces et favorisent l'apparition de microcolonies, considérées comme une étape précoce du développement du biofilm. Cette organisation contribue également à améliorer l'adaptation bactérienne face aux contraintes environnementales ainsi qu'aux interactions avec d'autres microorganismes présents dans le même environnement (Dessartine *et al.* 2024).

Les fimbriae d'adhérence agrégative (AAF), caractéristiques des souches entéroaggrégatives (EAEC), jouent également un rôle important dans les phénomènes d'adhésion et d'agrégation cellulaire. Elles favorisent l'organisation des bactéries en amas compacts et participent à la formation de biofilms plus denses et plus stables, renforçant ainsi la persistance bactérienne sur différentes surfaces (Van Nederveen *et al.*, 2025).

La diversité structurale des fimbriae chez *E. coli* est illustrée par l'identification de nouveaux groupes, notamment les fimbriae de type P-like. Ces structures présentent des variations génétiques importantes et sont associées à une capacité accrue d'adhésion ainsi qu'à une meilleure aptitude à former des biofilms. Elles contribuent ainsi au potentiel de colonisation et d'adaptation des souches bactériennes dans différents environnements (Habouria *et al.*, 2022).

L'expression des adhésines fimbriales peut être influencée par certains facteurs de virulence bactériens. À titre d'exemple, l'entérotoxine thermolabile produite par certaines souches entérotoxigènes d'*E. coli* est capable de stimuler l'expression de ces structures, ce qui augmente l'efficacité de l'adhésion bactérienne et favorise la colonisation des surfaces (Duan *et al.*, 2022).

II.2.2. Curli : Les curli sont des fibres amyloïdes extracellulaires produites par *Escherichia coli* et d'autres entérobactéries, jouant un rôle essentiel dans les premières étapes de l'adhésion aux surfaces. Elles participent à l'organisation de la matrice extracellulaire et contribuent à la cohésion et à la stabilité du biofilm en favorisant les interactions cellule-surface et cellule-cellule (Ledvina *et al.*, 2025; Rathi *et al.*, 2022).

La biosynthèse des curli est strictement régulée par des mécanismes génétiques impliquant notamment le régulateur CsgD ainsi que les opérons csgBA et csgDEFG. Cette régulation contrôle leur expression et leur assemblage, et toute altération de ces systèmes

entraîne une diminution notable de la capacité de formation du biofilm, ce qui met en évidence leur rôle clé dans ce processus (Lee *et al.*, 2024; Rathi *et al.*, 2022).

Dans les industries agroalimentaires, les curli, en association avec d'autres composants de la matrice extracellulaire tels que la cellulose, contribuent à la formation et à la persistance des biofilms à la surface des équipements et des aliments. Plusieurs études ont montré une corrélation significative entre la production de curli, la synthèse de cellulose et la capacité de formation de biofilm chez différentes souches d'*E. coli* (Yang *et al.*, 2023; Fang *et al.*, 2022).

Les curli participent indirectement à la résistance des biofilms aux agents antimicrobiens et aux conditions environnementales défavorables, en renforçant la structure de la matrice extracellulaire. Cette organisation contribue à la persistance des bactéries dans les chaînes alimentaires et à leur implication dans des contaminations récurrentes, notamment dans les produits frais (Yang *et al.*, 2025; Fang *et al.*, 2022).

Au-delà de leur rôle structural, les curli interviennent également dans certains mécanismes de défense bactérienne. Leur nature amyloïde confère aux biofilms une robustesse accrue, pouvant contribuer à la protection contre des agressions biologiques telles que la prédation par d'autres microorganismes (Ledvina *et al.*, 2025).

II.2.3. Flagelles : La motilité bactérienne, principalement assurée par les flagelles, constitue un élément clé dans les phases initiales de la formation des biofilms. Elle permet aux bactéries de se déplacer vers des surfaces favorables et d'y établir un premier contact, facilitant ainsi leur adhésion. Chez *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*, cette capacité de mobilité participe activement à l'organisation des communautés microbiennes et à l'initiation du processus de formation de biofilm (Vilas Boas *et al.*, 2024; Zhai *et al.*, 2024).

Les résultats expérimentaux indiquent que la perte de motilité, notamment chez des souches dépourvues de flagelles, s'accompagne d'une diminution notable de la capacité à former des biofilms. Cette observation met en évidence le rôle déterminant des flagelles lors des premières étapes de colonisation des surfaces, où la mobilité conditionne l'efficacité de l'attachement bactérien (Jiang *et al.*, 2025; Vilas Boas *et al.*, 2024).

La motilité flagellaire ne se limite pas à une fonction de déplacement, mais intervient également dans les mécanismes d'adhésion et dans la dynamique de structuration des biofilms. (Jiang *et al.*, 2025; Zhai *et al.*, 2024).

II.2.4. Production de polysaccharides extracellulaires : Les polysaccharides extracellulaires EPS constituent un élément essentiel de la matrice des biofilms et

interviennent directement dans leur formation et leur maintien. Leur synthèse débute généralement après l'adhésion initiale des bactéries à une surface, contribuant ainsi à la fixation durable des cellules et à l'organisation structurale du biofilm (Flemming *et al.*, 2023; Zayed *et al.*, 2022).

Ces polymères sont principalement composés de chaînes glucidiques, mais ils peuvent également être associés à d'autres constituants tels que des protéines, des lipides et de l'ADN extracellulaire. Cette diversité confère à la matrice des propriétés physiques et fonctionnelles spécifiques. La production des EPS est régulée par des mécanismes génétiques permettant aux bactéries d'ajuster leur synthèse en fonction des conditions environnementales et de leurs besoins physiologiques (Ragupathi *et al.*, 2024; Das, 2022).

En industries agroalimentaires, la formation des EPS est influencée par différents facteurs, incluant la nature des surfaces et la disponibilité des nutriments, ce qui favorise le développement de biofilms plus denses et persistants sur certains matériaux. Par ailleurs, les EPS assurent une fonction protectrice en limitant la diffusion des agents antimicrobiens, contribuant ainsi à la résistance et à la persistance des micro-organismes dans les installations de transformation alimentaire (Akter *et al.*, 2025; Flemming *et al.*, 2023).

II.3. Capacité de formation du biofilm chez *Escherichia coli*

La capacité d'*Escherichia coli* à former des biofilms repose sur plusieurs mécanismes biologiques lui permettant de s'adapter et de persister dans divers environnements, notamment ceux liés à l'industrie agroalimentaire. Le développement du biofilm implique une succession d'étapes comprenant l'adhésion initiale aux surfaces, la synthèse d'une matrice extracellulaire, l'intervention de systèmes de régulation génétique ainsi que l'influence de différents facteurs environnementaux. L'ensemble de ces mécanismes favorise la colonisation des surfaces de transformation alimentaire et contribue à la résistance des bactéries face aux conditions de nettoyage et de désinfection (Sadeghzadeh *et al.*, 2024 ; Xu *et al.*, 2023 ; Zhou *et al.*, 2022).

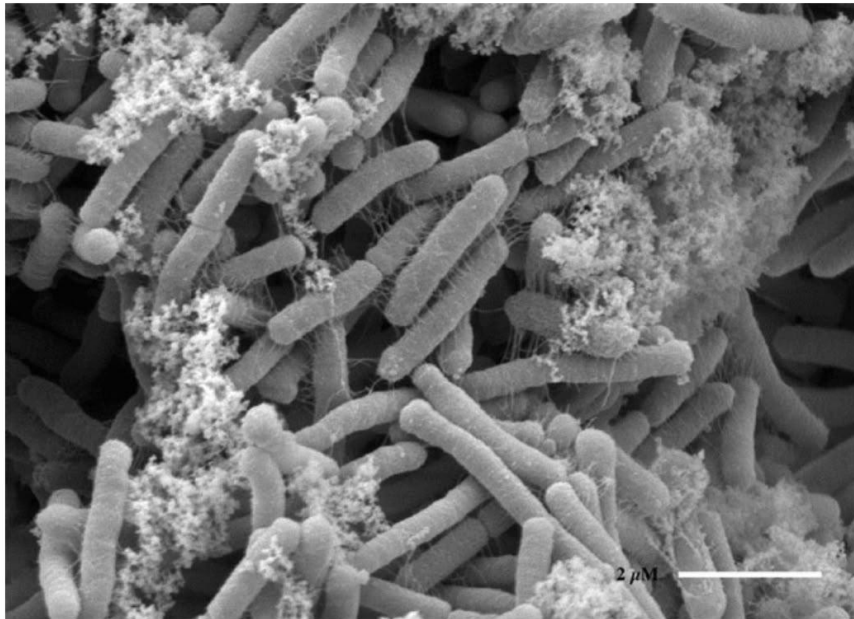


Figure 5: observation en microscopie électronique à balayage d'une biofilm d'*Escherichia coli* : réseau bactérien et matrice extracellulaire (Toussaint *et al.*, 2003)

II.3.1. Mécanismes d'adhésion : L'adhésion constitue une étape fondamentale dans le processus de formation du biofilm chez *Escherichia coli*, puisqu'elle permet aux cellules bactériennes de se fixer de manière durable sur différentes surfaces, notamment dans les environnements agroalimentaires. Ce phénomène résulte d'interactions complexes entre les propriétés des bactéries et celles du support (Zhao *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2022).

À l'échelle cellulaire, *E. coli* dispose de plusieurs structures impliquées dans l'adhésion, telles que les pili, les fimbriae et les fibres curli. Ces éléments facilitent l'établissement des premiers contacts avec les surfaces et jouent un rôle déterminant dans les phases initiales de colonisation (Zhang *et al.*, 2023).

En outre, les caractéristiques physicochimiques des surfaces, comme l'hydrophobicité, la rugosité et la charge électrique, influencent fortement la capacité d'adhésion des bactéries. Ces paramètres conditionnent notamment la colonisation des surfaces alimentaires ainsi que des équipements utilisés dans les procédés de transformation des aliments (Zhao *et al.*, 2024, Liu *et al.*, 2023).

Ainsi, l'adhésion apparaît comme une étape clé dans l'initiation du biofilm, en conditionnant à la fois l'installation et la persistance de *E. coli* dans les milieux alimentaires (Zhou *et al.*, 2022).

II.3.2. Production de la matrice extracellulaire : La formation du biofilm chez *Escherichia coli* dépend en grande partie de la production d'une matrice extracellulaire structurée,

composée principalement de substances polymériques extracellulaires (EPS). Cette matrice est constituée de divers éléments, notamment des polysaccharides, des protéines, des lipides ainsi que de l'ADN extracellulaire, qui assurent la cohésion des cellules bactériennes et participent à la stabilité du biofilm (Rath *et al.*, 2025; Kim *et al.*, 2023; Sinha *et al.*, 2022).

L'ADN extracellulaire occupe une place importante dans cette organisation, en contribuant à la mise en place et au maintien de l'architecture tridimensionnelle du biofilm. Sa présence résulte de mécanismes tels que la lyse cellulaire ou des processus de libération régulés, favorisant ainsi la structuration de la matrice (Rath *et al.*, 2025).

Par ailleurs, des interactions spécifiques entre les différents constituants de la matrice, notamment entre l'ADN extracellulaire et les lipopolysaccharides de surface, renforcent l'adhérence des cellules et la cohésion du biofilm. Ces interactions participent à la formation de structures organisées et relativement stables (Gupta *et al.*, 2024).

Enfin, la composition de cette matrice peut varier en fonction des conditions environnementales et de la nature des surfaces colonisées, ce qui influence directement les propriétés d'adhésion et la dynamique de formation du biofilm chez *E. coli* (Kim *et al.*, 2023; Sinha *et al.*, 2022).

II.3.3. Régulation génétique : La formation du biofilm chez *Escherichia coli* repose sur une régulation génétique complexe impliquant plusieurs systèmes de signalisation intercellulaire et intracellulaire. Le quorum sensing (QS), notamment à travers les autoinducteurs AI-2 et AI-3 ainsi que le régulateur SdiA, permet à la bactérie de moduler l'expression de gènes associés à l'adhésion, à la virulence et à l'organisation du biofilm en fonction de la densité cellulaire (Mayer *et al.*, 2023; Condinho *et al.*, 2023).

Par ailleurs, le nucleotide cyclique di-GMP (c-di-GMP) joue un rôle déterminant dans la transition entre les modes de vie planctonique et sessile. Une augmentation de sa concentration intracellulaire favorise l'établissement du biofilm en stimulant la production de la matrice extracellulaire, tandis que des niveaux plus faibles sont généralement associés à un phénotype plus mobile et potentiellement plus virulent (Condinho *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2022).

À un niveau plus spécifique, certains régulateurs transcriptionnels assurent un contrôle direct de l'expression des gènes impliqués dans la formation du biofilm. Le facteur CsgD apparaît comme un élément clé en activant la synthèse des curli et de la cellulose, deux composants majeurs de la matrice extracellulaire. De son côté, le régulateur LsrR, associé au système QS, intervient dans la modulation de gènes impliqués dans l'adhésion, notamment

ceux codant pour les pili de type 1, influençant ainsi la structuration du biofilm (Xu *et al.*, 2024; Yan *et al.*, 2023).

Dans l'ensemble, la régulation génétique du biofilm chez *E. coli* résulte d'une interaction étroite entre des mécanismes de signalisation et des régulateurs transcriptionnels, permettant à la bactérie de s'adapter de manière dynamique aux variations de son environnement et de favoriser sa persistance dans différents niches (Condinho *et al.*, 2023; Mayer *et al.*, 2023).

II.3.4. Influence des facteurs environnementaux

II.3.4. 1 Température: La température représente un paramètre environnemental essentiel dans la formation des biofilms chez *Escherichia coli*. Elle influence non seulement la croissance bactérienne, mais également l'expression des mécanismes impliqués dans l'adhésion et la colonisation des surfaces, en particulier dans les milieux agroalimentaires (Sadeghzadeh *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2022).

Les résultats expérimentaux d'une étude menée par Mouhoub et son équipe indiquent que la formation du biofilm est généralement plus marquée à des températures proches de 37 °C, correspondant aux conditions optimales de développement de la bactérie. À l'inverse, des températures plus faibles peuvent limiter les premières étapes d'adhésion, tout en permettant aux cellules de persister sur des durées plus longues (Mouhoub *et al.*, 2023).

En outre, la température agit souvent en synergie avec d'autres facteurs environnementaux, tels que le stress hydrique ou la dessiccation, ce qui peut modifier l'organisation et la résistance du biofilm. Ces interactions contribuent à renforcer la capacité d'adaptation des souches pathogènes, notamment dans les contextes liés à la sécurité alimentaire (Javed *et al.*, 2024).

II.3.4. 2 Nutriments: La disponibilité des nutriments constitue un facteur clé dans la capacité de *Escherichia coli* à former des biofilms, en influençant aussi bien la croissance cellulaire que la synthèse de la matrice extracellulaire (Siri *et al.*, 2024). Dans des conditions de limitation nutritionnelle, les biofilms tendent à présenter une organisation plus compacte et une résistance accrue, notamment en raison d'une production renforcée de structures comme les fibres curli (Siri *et al.*, 2024).

La nature du milieu de culture, qu'il soit riche ou pauvre, ainsi que la présence de certaines sources carbonées telles que le glucose, modifient significativement la formation du biofilm et l'expression des gènes impliqués dans ce processus (Hu *et al.*, 2022). Ces

observations mettent en évidence le rôle régulateur des nutriments dans les mécanismes moléculaires associés à l'adhésion et à la structuration du biofilm.

Dans des environnements plus complexes, notamment en milieu agroalimentaire, la disponibilité des ressources nutritives contribue également à façonner la composition des communautés microbiennes et à favoriser la persistance des biofilms sur les surfaces (Xu *et al.*, 2023). De plus, les interactions entre *E. coli* et d'autres microorganismes peuvent influencer cette dynamique en modulant l'accès aux nutriments et les processus de formation du biofilm (Fang *et al.*, 2022).

II.3.4. 3 Nature de la surface: La nature du support représente un élément déterminant dans les mécanismes d'adhésion et de formation du biofilm chez *Escherichia coli*. Les propriétés physico-chimiques des matériaux, notamment leur rugosité, leur hydrophobicité ainsi que leur composition, jouent un rôle majeur dans les premières interactions entre les cellules bactériennes et la surface, influençant ainsi la mise en place et la stabilité du biofilm (Slate *et al.*, 2024).

Des travaux expérimentaux ont mis en évidence la capacité de *E. coli* à coloniser divers types de surfaces couramment rencontrées dans l'industrie agroalimentaire, tels que l'acier inoxydable, le polystyrène ou encore le polyéthylène. Toutefois, le niveau d'adhésion observé varie en fonction du matériau, ce qui souligne l'importance des caractéristiques du support dans le processus de formation du biofilm (Carvalho *et al.*, 2023).

En outre, la nature de la surface peut également influencer l'efficacité des stratégies de lutte contre les biofilms. Par exemple, l'utilisation de bactériophages a montré des résultats variables selon le type de matériau, suggérant que les propriétés du support conditionnent en partie la persistance des populations bactériennes (Brás *et al.*, 2024).

II.3.4. 4 Film de conditionnement : Le film de conditionnement joue un rôle déterminant dans les premières étapes de l'adhésion bactérienne et dans la formation des biofilms chez *Escherichia coli*. En effet, les surfaces exposées à un environnement donné se recouvrent rapidement de composés organiques, tels que des protéines ou des résidus alimentaires, formant une couche intermédiaire qui modifie leurs propriétés physico-chimiques et influence l'interaction avec les cellules bactériennes (Wang *et al.*, 2025; Vidács *et al.*, 2024).

La composition de cette couche conditionnante peut ensuite orienter différemment les mécanismes d'adhésion et d'agrégation bactérienne. En particulier, les substances polymériques extracellulaires (EPS) participent à la modification des interactions cellule-surface, contribuant ainsi à l'organisation et à la stabilité du biofilm (Wang *et al.*, 2025).

Dans les environnements alimentaires, la présence de films de conditionnement peut également moduler l'efficacité des stratégies de contrôle. Certaines approches, telles que la conception de surfaces biomimétiques ou de revêtements spécifiques, permettent de limiter l'adhésion et la persistance de *E. coli*, même en présence de couches conditionnantes (Carvalho *et al.*, 2026; Gomes *et al.*, 2026).

II.4. Importance d'*Escherichia coli* dans l'industrie laitière

Dans l'industrie laitière, *Escherichia coli* occupe une place importante parmi les microorganismes associés aux contaminations microbiologiques des équipements et des produits finis. La présence de cette bactérie dans l'environnement de transformation constitue un indicateur de défaut d'hygiène et représente un risque potentiel pour la qualité sanitaire des denrées laitières. Grâce à sa capacité d'adhésion aux surfaces et à la formation de biofilms, *E. coli* peut persister dans les installations industrielles malgré les opérations de nettoyage et de désinfection. Cette aptitude favorise sa dissémination au sein des lignes de production et augmente les risques de contamination des produits alimentaires (Sadeghzadeh *et al.*, 2024 ; Zhang *et al.*, 2024 ; Sarba *et al.*, 2023).

II.4.1. Contamination des lignes de production : La contamination des lignes de transformation représente un problème majeur dans l'industrie laitière en raison de son impact direct sur la qualité microbiologique des produits. Les équipements, les surfaces de contact ainsi que l'environnement de production peuvent constituer des niches favorables au développement et à la circulation des microorganismes au sein des ateliers de fabrication (Midelet *et al.*, 2024; Jha *et al.*, 2022).

Escherichia coli est fréquemment retrouvé sur différentes surfaces en contact avec le lait, notamment les cuves, les tuyauteries, les séparateurs et les ustensiles utilisés durant les procédés de transformation. La capacité de cette bactérie à adhérer aux matériaux industriels favorise son maintien dans l'environnement de production et contribue aux phénomènes de contamination croisée entre les équipements et les produits alimentaires (Tadielo *et al.*, 2023; Gérard *et al.*, 2022).

Par ailleurs, les résidus organiques accumulés dans certaines zones difficilement accessibles des installations constituent des conditions favorables à la prolifération bactérienne. Des insuffisances dans les procédures de nettoyage et de désinfection peuvent ainsi favoriser la persistance de *E. coli* sur les surfaces de transformation (Gérard *et al.*, 2022).

La formation de biofilms représente également un facteur déterminant dans la contamination des lignes de production. En s'organisant sous forme de communautés

structurées à la surface des équipements, *E. coli* développe une meilleure tolérance aux contraintes

environnementales et aux agents antimicrobiens, ce qui facilite sa survie et sa dissémination dans les installations laitières (Niboucha, 2025; Sadeghzadeh *et al.*, 2024).

De plus, des phénomènes de post-contamination peuvent survenir après les traitements thermiques lorsque les produits entrent en contact avec des équipements contaminés. Cette situation peut compromettre la qualité sanitaire et organoleptique des produits laitiers et augmenter les risques de contamination pour le consommateur (Sanschagrin, 2024).

Les données issues des programmes de surveillance microbiologique montrent que les lignes de transformation constituent des sources potentielles de circulation et de maintien d'*E. coli* dans l'environnement laitier. Ces observations mettent en évidence l'importance de renforcer les pratiques d'hygiène et les mesures de contrôle microbiologique afin de limiter les risques de contamination dans les industries laitières (Ilikkan *et al.*, 2025).

II.4.2. Persistance après nettoyage : Malgré l'application de protocoles de nettoyage et de désinfection dans les industries agroalimentaires, la persistance de certains microorganismes sur les surfaces de transformation demeure fréquente. Cette situation est principalement liée à la capacité de certaines bactéries à former des biofilms, (Ait Said, 2026; Bridier, 2022).

Chez *Escherichia coli*, la formation du biofilm joue un rôle essentiel dans les mécanismes de persistance après nettoyage. La matrice extracellulaire produite par les cellules bactériennes agit comme une barrière limitant la diffusion des désinfectants et réduisant ainsi leur efficacité. Cette organisation favorise également la survie de cellules bactériennes plus tolérantes capables de recoloniser rapidement les surfaces après les opérations de sanitation (Sadeghzadeh *et al.*, 2024; Aouchiche & Djeddar, 2023).

Dans les installations laitières, *E. coli* peut persister sur différents matériaux utilisés dans les équipements de transformation, notamment l'acier inoxydable et certaines surfaces polymériques. La présence de résidus organiques issus du lait contribue également au maintien des biofilms en fournissant des nutriments favorables à la survie bactérienne (Richter, 2025; Gérard *et al.*, 2022).

Par ailleurs, certaines souches d'*E. coli* présentent une forte aptitude à adhérer aux surfaces et à produire des biofilms résistants, ce qui augmente leur tolérance vis-à-vis des désinfectants couramment utilisés dans l'industrie laitière. Cette capacité favorise la

persistance de contaminations résiduelles et la réapparition de contaminations microbiologiques malgré les procédures de nettoyage appliquées (Sadeghzadeh *et al.*, 2024).

La persistance d'*E. coli* dans les équipements de transformation constitue ainsi une source potentielle de recontamination des produits finis et représente un défi important pour la maîtrise de l'hygiène dans l'industrie laitière. Cette problématique souligne la nécessité de développer des stratégies de contrôle plus efficaces ciblant spécifiquement les biofilms bactériens (Richter, 2025; Bridier, 2022).

II.4.3. Risques pour la sécurité alimentaire : Les risques associés à la sécurité alimentaire dans les produits laitiers sont principalement liés à la présence de microorganismes pathogènes tels que *Escherichia coli* et *Salmonella enterica*, susceptibles de provoquer des infections d'origine alimentaire. Ces contaminations surviennent généralement dans des conditions d'hygiène inadéquates tout au long de la chaîne de production et de distribution (Okito *et al.*, 2025).

La fréquence de détection de *E. coli* dans le lait cru et ses dérivés souligne l'importance de ce risque sanitaire, d'autant plus que certaines souches possèdent des facteurs de virulence et des résistances aux antibiotiques. Cette situation complique la prise en charge des infections et renforce l'impact potentiel sur la santé publique (Zhang *et al.*, 2024; Sarba *et al.*, 2023).

Certains pathogènes, tels que *Listeria monocytogenes* et les *E. coli* entérohémorragiques, présentent une capacité de survie dans des environnements contraignants, notamment à basse température ou en conditions acides. Cette aptitude favorise leur maintien dans les produits alimentaires et augmente le risque d'exposition pour le consommateur (Yang *et al.*, 2022).

La contamination microbiologique des denrées laitières constitue un enjeu multidimensionnel, impliquant des conséquences à la fois sanitaires, économiques et réglementaires, en raison de son impact sur la qualité des produits et la conformité aux normes de sécurité alimentaire (Nwakoby *et al.*, 2025).



Matériel et méthodes



1. Lieu d'étude:

Ce travail a été mené au Laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences et Techniques Appliquées (ISTA-Université de Tlemcen) et au Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE), Université de Tlemcen durant la période allant du mois d'avril au mois de mai 2026 pendant l'année universitaire 2025/2026.

2. Origine des souches

Un total de 03 souches bactériennes utilisé dans cette étude appartient à l'espèce *Escherichia coli*, deux souches *E.coli* 82 et *E.coli* 73 et une souche de référence *E.coli* ATCC 25922. Les deux souches ont été isolées à partir des lignes de production du lait cru avant et après pasteurisation, après application du programme de nettoyage en place (NEP).

Les techniques RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA), ARDRA (Amplified L'identification des souches a été effectuée par des méthodes moléculaires basées sur Ribosomal DNA Restriction Analysis) ainsi que par le séquençage de l'ADNr 16S. Les souches retenues présentaient une capacité importante de formation du biofilm in vitro sur microplaques de titration (Cherif-Anntar *et al.*, 2016).

3. Revivification des souches :

Les souches conservées sur glycérol à -80 °C ont été revivifiées par transfert d'une fraction du stock dans 5 mL de bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth, Germany), suivi d'une incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation, un isolement sur gélose Mac Conkey a été réalisé afin d'obtenir des colonies pures. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures.

4. Observation microscopique :

Une observation microscopique a été réalisée pour chaque souche afin de vérifier sa pureté. Pour cela, une coloration simple au bleu de méthylène a été effectuée, suivie d'une observation des frottis au microscope optique au grossissement X 100 (**Figure 7**).

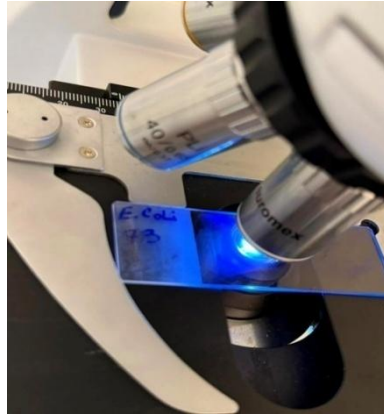


Figure 6: observation microscopique des souches des frottis après coloration au bleu de méthylène.

5. Conservation des souches :

Après vérification de leur pureté, les souches sélectionnées ont été conservées à court terme sur gélose inclinée.

Pour ce faire, un volume de 5 mL de gélose nutritive a été réparti dans des tubes stériles placés en position inclinée jusqu'à solidification du milieu. Les souches ont ensuite été ensemencées par stries à la surface de la gélose puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Les tubes ont finalement été conservés à 4 °C pendant une durée de 20 jours (**Figure 8**).



Figure 7: Préparation des géloses inclinées pour la conservation des souches

6. Effet de la température sur la formation du biofilm chez *Escherichia coli*:

Pour étudier l'effet de la température sur la formation de biofilm par les souches d'*E.coli*, un total de 03 valeurs de température largement rencontrées en industries laitiers est testé à savoir 20, 30 et 40 °C.

6.1 Préparation de l'inoculum:

Pour les essais de formation du biofilm, une suspension bactérienne a été préparée pour chaque souche par inoculation de 10 mL de milieu BHIB. Après une incubation de 18 à 24 heures à 37 °C, l'inoculum a été ajusté à une concentration d'environ 10^8 UFC/ml à l'aide d'un densitomètre correspondant à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 596 nm.

6.2 Formation du biofilm:

L'étude de l'effet de la température sur la formation du biofilm a été réalisée dans du bouillon BHI supplémenté en glucose à une concentration de 0,25 %.

Dans chaque puits d'une microplaque de titration à 96 puits, un volume de 200 µl du milieu de culture a été distribué, puis 10 µl de la suspension bactérienne ont été ajoutés (Figure 9).

Les microplaques ont été incubées à différentes températures (25, 30 et 40 °C) pendant des durées variables de 0, 2, 4, 6 et 24 heures. Chaque condition expérimentale a été réalisée en triple. Les puits témoins négatifs contenaient uniquement le milieu de culture sans inoculum bactérien.



Figure 8: microplaque de titrationensemencée

6.3 Quantification du biofilm formé :

La quantification du biofilm a été effectuée par la méthode de coloration au cristal violet. Après incubation, le contenu des puits a été éliminé puis les puits ont été rincés trois fois avec une solution de PBS (Phosphate Buffered Saline ou Solution saline tamponnée au phosphate) afin d'éliminer les cellules non adhérentes.

Les plaques ont ensuite été laissées sécher à température ambiante pendant 15 minutes. Par la suite, 200 μ l d'une solution de cristal violet à 0,1 % ont été ajoutés dans chaque puits et laissés agir pendant 15 minutes à température ambiante (**Figure 10**).

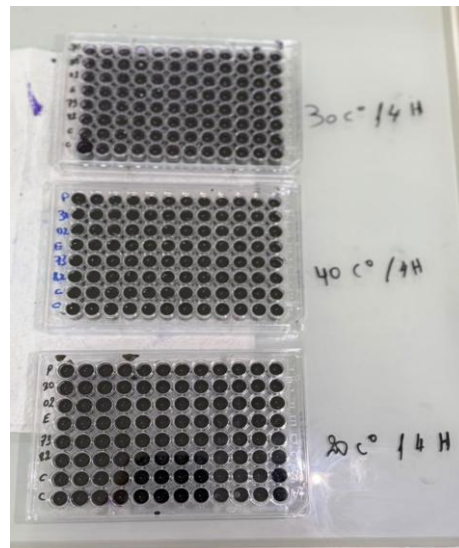


Figure 9: microplaques avec puits additionnées de cristal violet

L'excès de colorant a été éliminé par rinçage à l'eau distillée stérile puis les plaques ont été séchées à l'air libre (**Figure 11**). Le cristal violet fixé a été solubilisé à l'aide de 150 μ l d'acide acétique à 33 %. La mesure de la densité optique a été faite à 596 nm par un lecteur automatique (Figure 12).

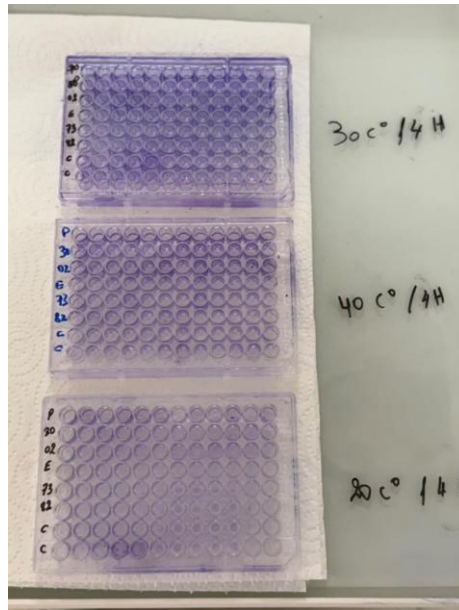


Figure 10: microplaqué après élimination du cristal violet et séchage à l'air libre l'adhésion bactérienne a été évaluée par mesure de l'absorbance à 596 nm à l'aide d'un lecteur automatique de microplaque

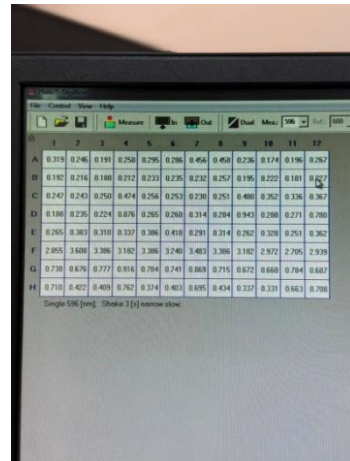


Figure 11: lecteur automatique de microplaque à une absorbance à 596 nm

7. Effet du film de conditionnement sur la formation du biofilm chez *Escherichia coli*:

Pour étudier l'effet de du film de conditionnement sur la formation de biofilm par souches d'*E.coli*, les lames d'acier inoxydable ont été mises en contact avec du lait entier UHT pour former un film de conditionnement.

7.1 Préparation des surfaces en acier inoxydable:

Les lames d'acier inoxydable utilisées dans cette étude ont été préalablement nettoyées et stérilisées afin d'éliminer toute contamination organique ou microbiologique.

Les surfaces ont d'abord été rincées à l'acétone pure puis immergées dans une solution détergente alcaline à base de NaOH à 1 % (p/v) pendant une heure. Après rinçage à l'eau distillée stérile, les lames ont été désinfectées à l'alcool à 70%, rincées une seconde fois puis séchées à 60 °C pendant deux heures. Enfin, la stérilisation a été réalisée à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

7.2 Formation du biofilm:

Pour chaque essai, une lame a été immergée dans le lait entier UHT pendant 2H à température ambiante (**Figure 13, A**). Ensuite, les lames sont retirées aseptiquement, rincées avec EDS puis transférée dans des tubes contenant 10 ml de la suspension bactérienne ajustée à une concentration d'environ 10 UFC/mL à l'aide d'un densitomètre correspondant à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 596 nm. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24h. Les tubes du témoin négatif contenaient les lames d'aciers inoxydables et les le BHIB stériles sans ajout de culture bactérienne (**Figure 13, B**).

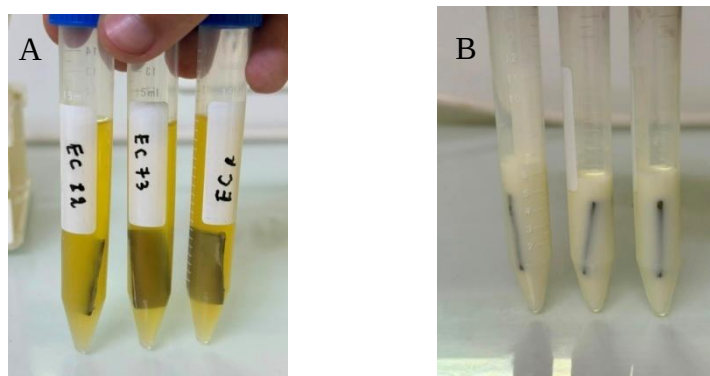


Figure 12: formation de biofilm sur les lames d'acier inoxydable conditionnées, a: lames conditionnées immergées dans l'inoculum, b: conditionnement de lames avec le lait entier UHT

7.3 Quantification des cellules adhérentes :

Après incubation, les lames ont été rincées trois fois avec une solution de PBS pendant 10 secondes afin d'éliminer les cellules non adhérentes.

Les cellules adhérentes ont été récupérées par écouvillons stériles imbibés dans l'EDS par des frottements répétés. Les écouvillons ont été, par la suite, transférés dans des tubes contenant 9 mL d'eau physiologique stérile puis soumis au vortex (**Figure 14**).

Matériel et méthodes

Des dilutions décimales successives ont été réalisées puis 100 µl de chaque dilution ont été ensemencés sur gélose nutritive. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, les cellules adhérentes ont été dénombrées et les résultats exprimés en UFC/cm² selon la formule

suivante :

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

Avec :

- n: nombre de colonies dénombrées.
- d: facteur de dilution.
- v: volume utilisé pour le dénombrement.
- S: surface de la lame correspondant à 5 cm².

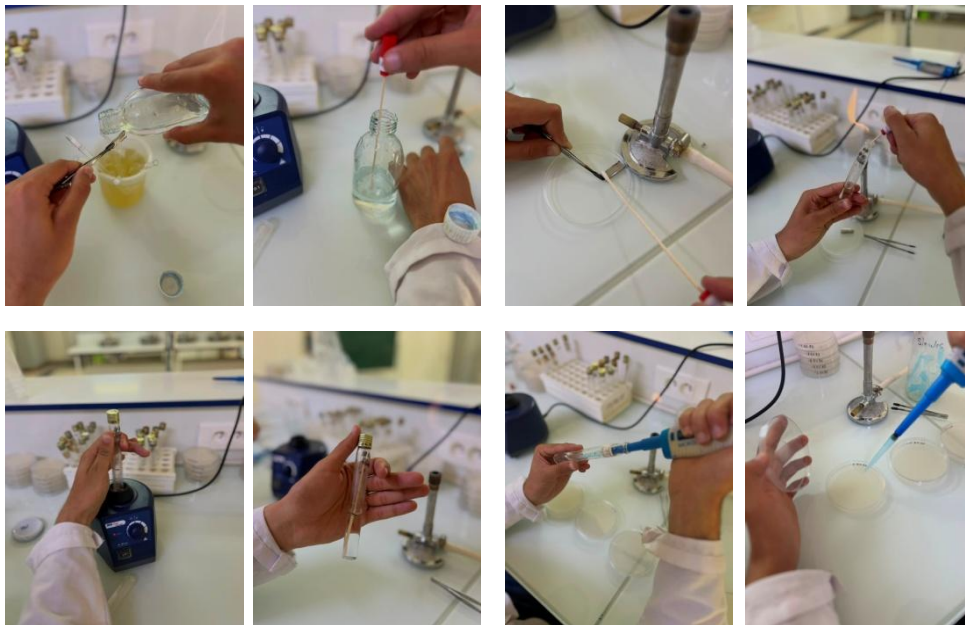


Figure 13: Procédure de récupération des cellules adhérentes



Résultats et Discussion



1. Observation macroscopique et microscopique des souches

Les trois souches d'*Escherichia coli* étudiées à savoir, *E. coli* 73, *E. coli* 82 et *E. coli* Réf ATCC 25922 ont donné des colonies, sur la gélose Mac Conkey, à aspect circulaire, homogène et avec une coloration rose caractéristique et taille moyenne (**Figure 15**).

L'observation microscopique, après coloration simple au bleu de méthylène, a révélé que les cellules sont des bacilles (**Figure 16**).

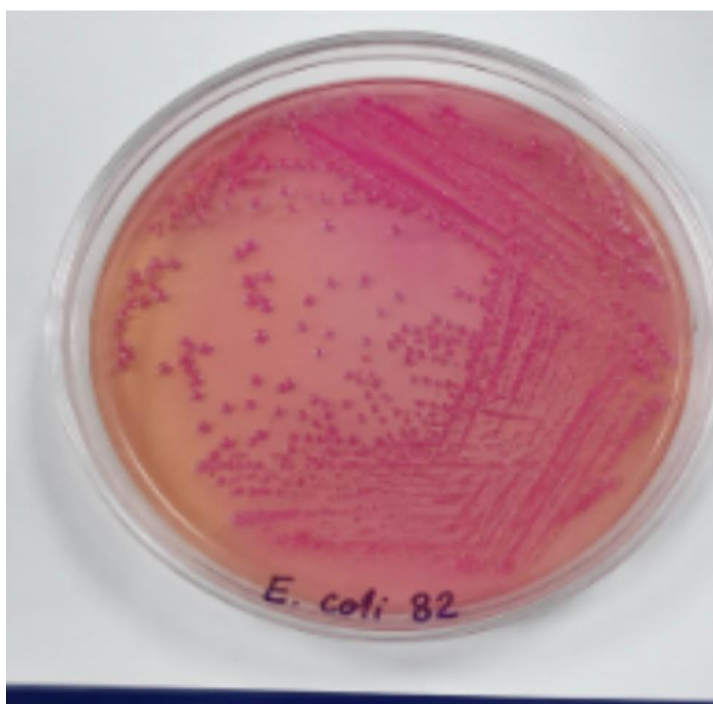


Figure 14: Aspect des colonies de la souche E.coli 82 sur la gélose Mac Conkey

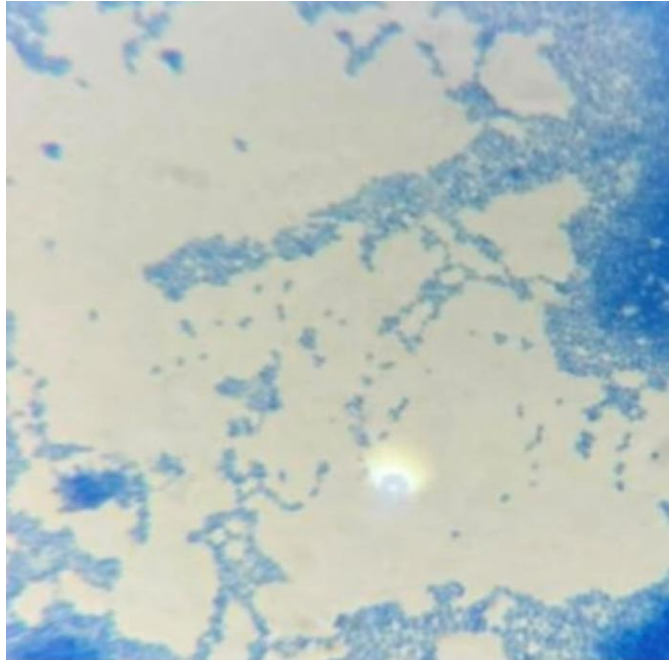


Figure 15: observation microscopique de la souche *E.coli* 82 après coloration au bleu de méthylène G 10x100

2. Effet de la température sur la formation du biofilm chez *Escherichia coli*:

Pour étudier l'effet de la température sur la formation de biofilm par les souches d'*E.coli*, un total de 03 valeurs de température largement rencontrées en industries laitiers est testé à savoir 20, 30 et 40 °C.

2.1 Formation de biofilm à 20 C ° :

À 20 °C, la production de biofilm augmente progressivement avec le temps d'incubation (**Figure 17**). Après 2 heures, les valeurs de densité optique (DO) sont faibles pour toutes les souches: *E. coli* 73 (0,19), *E. coli* 82 (0,18) et *E. coli* Référence (0,21). Après un temps de contact de 6h, les valeurs obtenues variaient entre 0,20 et 0,29.

Une croissance significative est observée après 24 heures d'incubation, avec une valeur de densité DO = 0,31 pour *E. coli* 73, DO = 0,53 pour *E. coli* 82 et DO = 0,46 pour la souche Référence. Le témoin (contrôle) présente la valeur la plus faible (DO $\approx$ 0,23).

Ces résultats montrent que la capacité de formation du biofilm augmente avec la durée d'incubation et que la souche *E. coli* 82 possède le potentiel de production de biofilm le plus important à 20 °C.

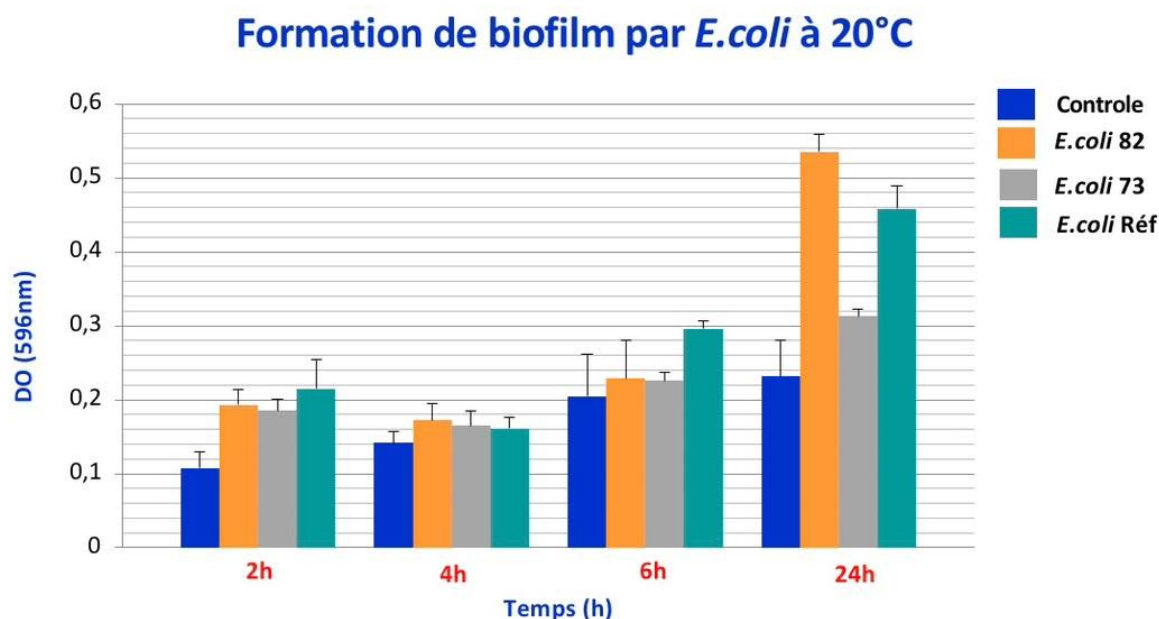


Figure 16: formation de biofilm par les souches de *E.coli* à 20 °C en fonction du temps d'incubation (DO à 596 nm)

2.2 Formation de biofilm à 30 °C:

À 30 °C, la formation du biofilm augmente progressivement avec le temps d'incubation pour toutes les souches étudiées, avec une augmentation particulièrement marquée après 6 h et 24 h (**Figure 18**). La souche *E. coli* 82 présente la production de biofilm la plus élevée à 24 h (DO ≈ 0,57), suivie de la souche *E. coli* Réf (DO ≈ 0,49) puis de la souche *E. coli* 73 (DO ≈ 0,42). Le témoin (contrôle) présente les valeurs les plus faibles tout au long de l'expérience (DO ≈ 0,29 à 24 h).

Ces résultats montrent que 30 °C favorisent fortement la formation du biofilm chez les souches d'*E. coli* étudiées, suggérant que cette température est proche des conditions optimales de production du biofilm.

Formation de biofilm par *E.coli* à 30 °C

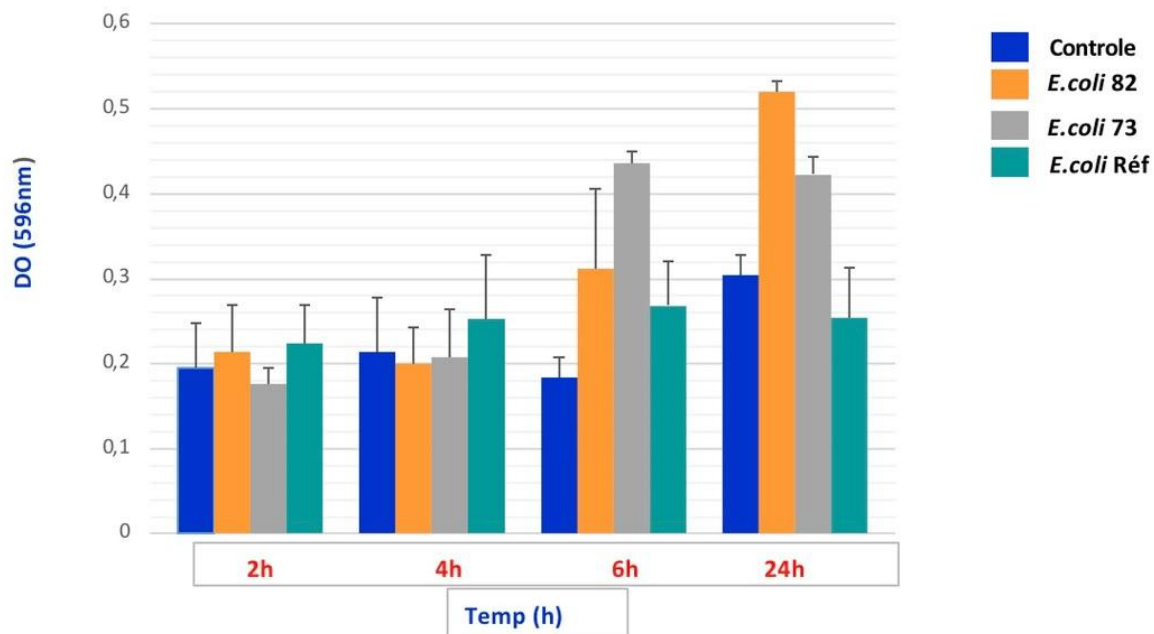


Figure 17: formation de biofilm par les souches de *E.coli* à 30 °C en fonction du temps d'incubation (DO à 596 nm)

2.3 Formation de biofilm à 40 °C :

À 40°C, la formation de biofilm est globalement moins importante que celle observée à 30 °C (**Figure 19**). Après 24 heures, les valeurs de DO restent modérées : *E. coli* 73 (0,41), *E. coli* 82 (0,27) et Référence (0,28). Le témoin (contrôle) présente la valeur la plus faible (DO≈ 0,22). Cette réduction résulte probablement du stress thermique qui limite la production de matrice extracellulaire.

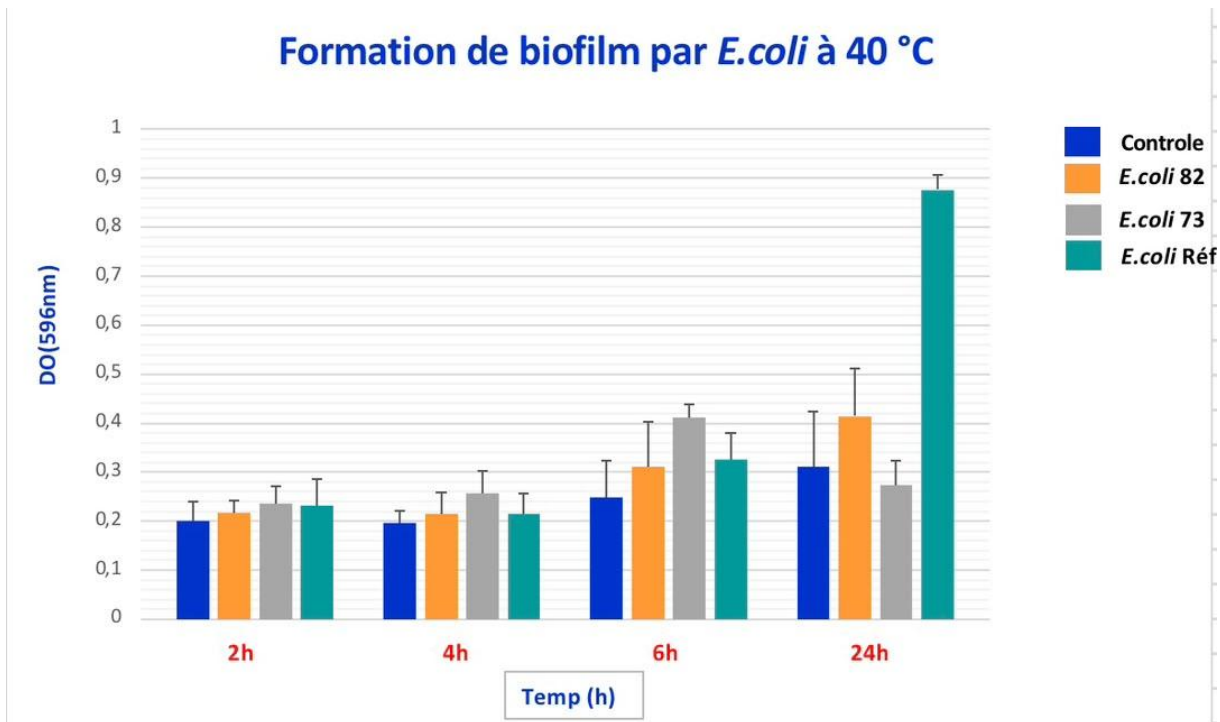


Figure 18: formation de biofilm par *E.coli* à 40 °C en fonction du temps d'incubation (DO à 596 nm)

3. Effet du film de conditionnement sur la formation du biofilm chez *Escherichia coli*:

Pour étudier l'effet de du film de conditionnement sur la formation de biofilm par les souches d'*E.coli*, les lames d'acier inoxydable ont été mises en contact avec du lait entier UHT pour former un film de conditionnement.

Les résultats exprimés en UFC/cm² ont indiqué que les valeurs obtenues variaient entre 6,5 et 8,9. La valeur la plus élevée était celle de la souche *E. coli* 73 (DO = 8,9), suivie par la souche Référence et *E. coli* 82 (DO = 8,8); respectivement (**Figure 20**).

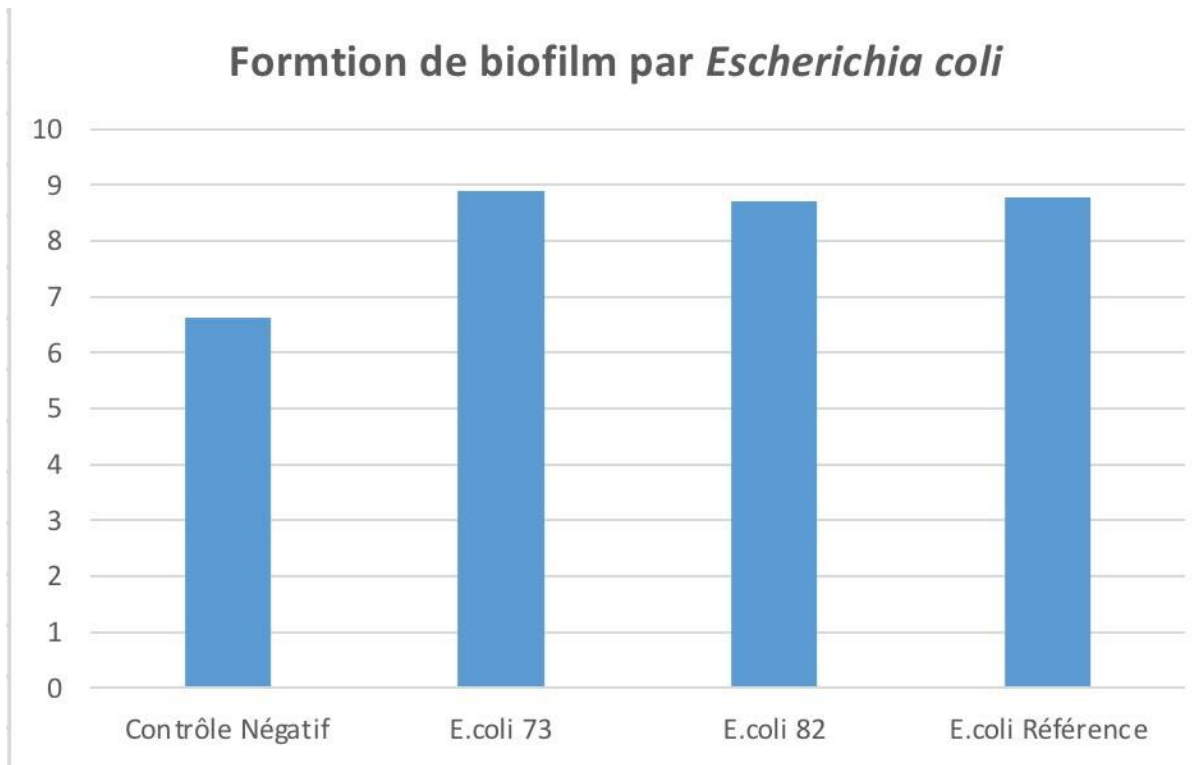


Figure 19: evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souches de *E.coli* sur les surfaces d'acier inoxydable conditionnées avec le lait

4. Discussion

La formation de biofilm est un phénomène microbiologique central et critique dans l'industrie agroalimentaire.

Les résultats obtenus mettent en évidence l'influence significative de la température et du temps d'incubation sur la formation du biofilm par les souches d'*Escherichia coli* étudiées. Dans l'ensemble, l'augmentation du temps d'incubation s'accompagne d'une augmentation de la densité optique, traduisant une accumulation progressive de biomasse adhérente aux surfaces. À 20 C°, les trois souches ont présenté une faible capacité d'adhésion après 2 h d'incubation. La production de biofilm augmente progressivement jusqu'à 24 h, où la souche *E. coli* 82 a atteint la valeur la plus élevée (DO = 0,536), suivie de la souche Référence (DO = 0,459) et de la souche *E. coli* 73 (DO = 0,313). Cette évolution suggère que les températures modérées favorisent la phase de maturation du biofilm. Ces résultats sont comparables à ceux de (Reisner *et al.* 2006), qui ont montré qu'*E. coli* est capable de produire des biofilms importants à des températures inférieures à son optimum de croissance, notamment grâce à l'expression accrue des structures d'adhésion telles que les curli.

À 30°C, la formation du biofilm devient plus rapide dès les premières heures d'incubation. Après 6 h, *E. coli* 73 présente la densité optique la plus élevée (DO = 0,437),

Résultats et discussion

suivie de la souche Référence (DO = 0,369) et de *E. coli* 82 (DO = 0,312). Cependant, à 24 h, la souche *E. coli* 82 atteint la valeur maximale observée pour l'ensemble des souches (DO = 0,570), tandis que la souche Référence atteint 0,494 et *E. coli* 73 reste à 0,423. Ces résultats confirment que 30 °C constituent une température particulièrement favorable à la formation de biofilm. Des observations similaires ont été rapportées par (Öztürk *et al.* 2022), qui indiquent que plusieurs souches d'*E. coli* développent une capacité maximale de production de biofilm entre 28 et 32°C en raison d'une expression optimale des gènes impliqués dans l'adhésion cellulaire et la synthèse de la matrice extracellulaire.

À 40 °C, la cinétique de formation du biofilm diffère légèrement. Après 24 h, la souche *E. coli* 82 conserve une capacité élevée de formation (DO = 0,414), tandis que les souches *E. coli* 73 et Référence présentent respectivement des valeurs de 0,273 et 0,276. Cette diminution observée pour certaines souches pourrait résulter d'un stress thermique affectant la synthèse des exopolysaccharides et la stabilité des protéines impliquées dans l'adhésion. (Zhou *et al.* 2022) rapportent également qu'une augmentation excessive de la température peut modifier la structure de la matrice biofilmique et réduire sa stabilité.

La comparaison globale des trois températures montre que la production maximale de biofilm est obtenue à 30°C pour la majorité des souches. Cette température semble représenter le meilleur compromis entre croissance bactérienne et synthèse de la matrice extracellulaire. Les températures plus faibles ralentissent la croissance et la maturation du biofilm, tandis que les températures plus élevées peuvent induire un stress physiologique limitant l'accumulation de biomasse.

L'analyse comparative entre les souches révèle une forte variabilité inter-souches. Contrairement à ce qui est fréquemment observé dans la littérature où certaines souches de référence présentent les meilleures capacités de colonisation, la souche *E. coli* 82 apparaît ici comme la plus performante après 24 h d'incubation à toutes les températures étudiées. Cette aptitude pourrait être liée à des différences génétiques affectant l'expression des fimbriae, des curli ou des polysaccharides extracellulaires. Selon (Beloïn et Ghigo, 2005), ces facteurs constituent les principaux déterminants de la variabilité de formation du biofilm chez *E. coli*.

Les résultats de dénombrement confirment également la forte capacité de colonisation des souches étudiées. Les concentrations atteignent $7,73 \times 10^8$ UFC/ml pour *E. coli* 73 et $5,19 \times 10^8$ UFC/ml pour *E. coli* 82, indiquant une biomasse importante susceptible de favoriser la persistance bactérienne sur les surfaces industrielles. Ces niveaux sont comparables à ceux rapportés dans les industries agroalimentaires où les biofilms constituent

Résultats et discussion

une source majeure de contamination croisée et de résistance aux opérations de nettoyage et de désinfection.

Dans le contexte agroalimentaire, ces observations soulignent l'importance du contrôle de la température des équipements et des locaux de production. Les températures proches de 30°C apparaissent particulièrement critiques puisqu'elles favorisent la maturation rapide des biofilms *d'E.coli*. La mise en œuvre de procédures rigoureuses de nettoyage et de désinfection demeure donc indispensable pour limiter leur installation et réduire les risques sanitaires associés.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que la formation d'un film de conditionnement par le lait entier UHT augmente la capacité de formation de biofilm *d'Escherichia coli* sur l'acier inoxydable. Cette augmentation de l'adhésion confirme que les surfaces en contact avec des matrices alimentaires ne restent pas physicochimiquement neutres, mais subissent des modifications importantes qui influencent directement les interactions bactérie-surface.

Dans notre étude, les valeurs les plus élevées observées pour la souche *E. coli* 73 suggèrent une forte capacité d'adhésion et de production de biofilm, probablement liée à une expression plus importante des facteurs d'adhésion (fimbriae de type 1, curli) et/ou à une production accrue d'exopolysaccharides (EPS). Cette variabilité intra-espèce est largement rapportée dans la littérature. (Marti *et al.*, 2017) ont montré que les isolats *d'E. coli* issus de l'industrie laitière présentent des capacités de biofilm très hétérogènes, dépendant fortement des caractéristiques génétiques des souches et des conditions environnementales.

L'effet du film de lait observé dans notre étude est cohérent avec les travaux de (Barnes *et al.*, 1999), qui ont démontré que la pré-adsorption de protéines du lait sur l'acier inoxydable modifie les propriétés de surface et influence l'adhésion bactérienne. Les auteurs ont montré que les protéines laitières (caséines et lactalbumine) peuvent former une couche conditionnante modifiant l'attachement microbien, en agissant sur l'hydrophobicité et les charges de surface.

De manière plus spécifique au lait cru ou aux matrices laitières, El Hafa *et al.*, (2025) ont rapporté que le conditionnement des surfaces en acier inoxydable par le lait entraîne une augmentation significative de l'adhésion *d'E. coli*, passant de 0,55 à 2,8 log₁₀ UFC/cm². Cette augmentation est attribuée à la modification des propriétés physicochimiques de la surface, notamment la diminution de l'énergie de surface et la modification de la mouillabilité.

Résultats et discussion

Le mécanisme général de formation du biofilm sur les surfaces en acier inoxydable est bien décrit dans la littérature. Il débute par une étape d'adhésion réversible, suivie d'une adhésion irréversible et de la production d'une matrice extracellulaire protectrice. Chmielewski et Frank, (2003) ont souligné que cette étape initiale est fortement influencée par les interactions faibles (forces de Van der Waals, interactions électrostatiques et hydrophobes), lesquelles sont profondément modifiées par la présence de films organiques alimentaires.

Dans notre cas, le lait UHT agit comme un substrat conditionnant riche en protéines et lipides, favorisant l'ancrage initial des cellules bactériennes et accélérant la transition vers un biofilm mature. Ce phénomène est particulièrement préoccupant en industrie laitière, car les biofilms formés sur acier inoxydable sont connus pour leur résistance accrue aux procédés de nettoyage et de désinfection, contribuant ainsi à la persistance bactérienne et aux risques de contamination croisée.

Ainsi, nos résultats confirment que le film de lait ne constitue pas seulement un résidu passif, mais un facteur actif de modulation de l'adhésion bactérienne et de la formation du biofilm, renforçant les risques sanitaires dans les environnements de transformation alimentaire.



Conclusion



Conclusion

Cette étude a permis d'évaluer de manière globale les facteurs influençant la formation du biofilm chez différentes souches d'*Escherichia coli* dans un contexte agroalimentaire, en intégrant à la fois l'effet de la température, du temps d'incubation et de la présence d'un film de conditionnement à base de lait entier UHT sur des surfaces en acier inoxydable.

Les résultats obtenus montrent que la formation du biofilm est un processus dynamique qui augmente progressivement avec le temps d'incubation, traduisant les étapes classiques de la formation de biofilm, allant de l'adhésion initiale à la maturation de la matrice extracellulaire. Toutefois, cette dynamique est fortement influencée par les conditions environnementales.

La température s'est révélée être un facteur déterminant, avec une formation optimale observée à 30°C, tandis qu'une réduction de la biomasse est constatée à 20°C et 40°C. Ces variations suggèrent l'existence d'une zone thermique favorable à l'expression des facteurs d'adhésion et à la production de la matrice extracellulaire, alors que les conditions extrêmes induisent soit un ralentissement métabolique, soit un stress thermique limitant la structuration du biofilm.

Par ailleurs, l'étude du film de conditionnement à base de lait entier UHT met en évidence son rôle significatif dans l'augmentation de l'adhésion bactérienne et de la biomasse du biofilm. Ce film organique modifie les propriétés physicochimiques de la surface en acier inoxydable, facilitant ainsi l'attachement initial des cellules et favorisant le développement d'une matrice protectrice. Ce phénomène représente un facteur de risque majeur en industrie agroalimentaire, notamment dans le secteur laitier, où les surfaces peuvent devenir des réservoirs persistants de contamination microbienne.

L'analyse comparative des souches révèle une variabilité inter-souches marquée. La souche *E. coli* 73 se distingue par sa forte capacité de production de biofilm, particulièrement à 30°C et en présence du film de lait, suggérant un potentiel d'adhésion élevé et une meilleure adaptation aux surfaces conditionnées. La souche *E. coli* 82 présente un comportement plus stable mais globalement moins productif, tandis que la souche de référence occupe une position intermédiaire.

Sur le plan appliqué, ces résultats soulignent l'importance cruciale du contrôle des paramètres environnementaux et de la qualité du nettoyage et de la désinfection des équipements agroalimentaires. La combinaison d'une température favorable et de résidus organiques tels que le film de lait peut significativement augmenter le risque de formation de biofilms, favorisant ainsi la persistance bactérienne et les contaminations croisées.

Conclusion

En conclusion, ce travail met en évidence que la température, le temps d'incubation et la présence de matrices organiques constituent des facteurs clés dans la régulation de la formation de biofilm chez *E. coli*. Il confirme également le potentiel élevé de certaines souches à coloniser durablement les surfaces industrielles. Ces résultats renforcent la nécessité de stratégies de maîtrise rigoureuses et adaptées afin de limiter la formation et la persistance des biofilms dans les environnements agroalimentaires.



Les Références



Les Références

1. Adeboye, A., Onyeaka, H., Al-Sharify, Z., & Nnaji, N. (2024). Understanding the influence of rheology on biofilm adhesion and implication for food safety. *International Journal of Food Science*, 2024, Article 2208472 <https://doi.org/10.1155/2024/2208472>.
2. Afrasiabi, S., & Partoazar, A. (2024). Targeting bacterial biofilm-related genes with nanoparticle-based strategies. *Frontiers in Microbiology* 15, 1387114., <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1387114>.
3. Agu, C. G., Nfongeh, J. F., Okoye, E. C. S., Audu, B. J., Chukwu, D., Anueyiagu, K. N., Mohammad, M., & Aleruchi, C. (2024). Prevalence and antimicrobial resistance profiles of faecal *Escherichia coli* isolates from local chickens in Plateau State, Nigeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 25(3), 364–372. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v25i3.9>.
4. Ait Said, L. (2026). Identification et caractérisation des microorganismes biofilmogènes issus de la pêche et l'aquaculture au Québec Mémoire de maîtrise, Université Laval. Disponible sur : corpus.ulaval.ca.
5. Akter, S., Rahman, M. A., Ashrafudoulla, M., & Ha, S.-D. (2025). Biofilm formation and analysis of EPS architecture comprising polysaccharides and lipids by *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* on food processing surfaces. *Food Research International*, 209, 116274 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116274>.
6. Alhadlaq, M. A., Aljurayyad, O. I., Almansour, A., Al-Akeel, S. I., Alzahrani, K. O., Alsalman, S. A., Yahya, R., Al-Hindi, R. R., Hakami, M. A., Alshahrani, S. D., Alhumeed, N. A., Al Moneea, A. M., Al-Seghayer, M. S., AlHarbi, A. L., Al-Reshoodi, F. M., & Alajel, S. (2024). Overview of pathogenic *Escherichia coli*, with a focus on Shiga toxin-producing serotypes, global outbreaks (1982-2024) and food safety criteria. *Gut Pathogens*, 16, 57 <https://doi.org/10.1186/s13099-024-00641-9>.
7. Al-Shabib, N. A., Husain, F. M., Ashraf, N. M., Arshad, M., Khan, J. M., Khan, A., Adil, M., & Hassan, I. (2025). Mangiferin alleviates quorum sensing-regulated biofilm formation and virulence factor production in pathogenic bacteria: In vitro and in silico investigation. *Process Biochemistry*, 149, 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.12.009>.
8. Alsuwat, M. A., Shah, A. A., Ullah, S., Khan, R. U., Alissa, M., & Khan, M. S. (2025). Microbial biofilm formation to mitigate foodborne pathogens: Strategies and control

Les Références

- measures. Indian Journal of Microbiology. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s12088-025-01461-4>.
9. Amyx-Sherer, K., & Reichhardt, C. (2024). Challenges and opportunities in elucidating the structures of biofilm exopolysaccharides: A case study of the *Pseudomonas aeruginosa* exopolysaccharide called Pel. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 62(5), 361–369. <https://doi.org/10.1002/mrc.5405>.
 10. ANSES. (2024). *Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC) / *Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail <https://www.anses.fr>.
 11. Aouchiche, K., & Djeddar, R. (2023). Contribution à l'évaluation de la contamination microbienne des surfaces avant et après le nettoyage et désinfection dans un abattoir avicole. École Nationale Supérieure Vétérinaire, Alger. Disponible sur : depot.ensv.dz.
 12. Arnaouteli, S, Bomford, N.C., Stanley Wall, N.R., Kovács, A. T. (2021). *Bacillus subtilis* biofilm formator and social. interactions *Nature Review H: erobiology*, 19(9), 600-614. <https://doi.org/10.1038/541579-021-00340-9>
 13. Arnaouteli, S., Bamford, N. C., Stanley-Wall, N. R., & Kovács, Á. T. (2021). *Bacillus subtilis* biofilm formation and social interactions. *Nature Reviews Microbiology*, 19(9), 600-614. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00540-9>.
 14. Ban-Cucerzan, A., Imre, K., Morar, A., Marcu, A., Hotea, I., & Popa, S.-A. (2025). Persistent threats: A comprehensive review of biofilm formation, control, and economic implications in Food processing environments *Microorganisms*, 13(8), 1805. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13081805>.
 15. Ban-Cucerzan, A., Imre, K., Morar, A., Marcu, A., Hotea, I., & Popa, S.-A. (2025). Persistent threats: A comprehensive review of biofilm formation, control, and economic implications in Food processing environments *Microorganisms*, 13(8), 1805. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13081805>.
 16. Baquero, F., et al. (2025). Biophysics of bacterial colonial structures and the occupancy of microecological spaces. *Biology*, 15(1), 56 <https://doi.org/10.3390/biology15010056>.
 17. Barnes, L.-M. et al. (1999). Effect of Milk Proteins on Adhesion of Bacteria to Stainless Steel Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10), 4543-4548.
 18. Beloin C., Ghigo J.M. (2005). Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms. *Trends in Microbiology*, 13, 16-19.

Les Références

19. Biswas, S., Ahmed, M., Das, P., Niharika, I. T., Das, S. C., Shayla, M. U., Mita, M. A., Biswas, S., Hasan, M. R., Zaman, S., & Saleh, M. A. (2025). Biofilms: Mechanisms, quorum sensing, antibiotic resistance and implications in the food industry. *Biologia*, 80, 1803–1821. <https://doi.org/10.1007/s11756-025-01953-0>.
20. Bland, R., Brown, S. R. B., Waite-Cusic, J., & Kovacevic, J. (2022). Probing antimicrobial resistance and sanitizer tolerance themes and their implications for the food industry through the *Listeria monocytogenes* lens. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 1777-1802 <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12910>.
21. Böhning, J., Tarafder, A. K., & Bharat, T. A. M. (2024). The role of filamentous matrix molecules in shaping the architecture and emergent properties of bacterial biofilms. *Biochemical Journal*, 481(4), 245-263 <https://doi.org/10.1042/BCJ20210301>.
22. Bottura, B., Rooney, L. M., Hoskisson, P. A., & McConnell, G. (2022). Intra-colony channel morphology in *Escherichia coli* biofilms is governed by nutrient availability and substrate stiffness. *Biofilm*, 4, 100084 <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2022.100084>.
23. Brahimi, H., & Hattou, S. (2023). Étude de l'effet inhibiteur de l'acide salicylique sur l'adhérence et la croissance planctonique de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* (Mémoire de master, Biologie et sciences de la nature). Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.
24. Brás, A., Braz, M., Martinho, I., Duarte, J., Pereira, C., & Almeida, A. (2024). Effect of bacteriophages against biofilms of *Escherichia coli* on food processing surfaces. *Microorganisms*, 12(2), 366 <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020366>.
25. Bridier, A. (2022). Biofilms bactériens, biocides et antibiorésistance Habilitation à diriger des recherches, Université de Rennes 1. Disponible sur : hal.science.
26. Bridier, A., & Briandet, R. (2022). Microbial biofilms: Structural plasticity and emerging properties. *Microorganisms*, 10(1), 138 <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010138>.
27. 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. <https://doi.org/10.3390/ijerph18042014>
28. Carvalho, D., Chitolina, G. Z., Wilsmann, D. E., Lucca, V., & de Emer, B. D. (2023). Adhesion capacity of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni*

Les Références

- on polystyrene, stainless steel, and polyethylene surfaces. *Food Microbiology*, 114, 104280. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104280>.
29. Carvalho, F. M., Lima, M., Shahzad, I., Whitehead, K. A., Gomes, L. C., & Mergulhão, F. J. (2026). Vegetable-inspired biomimetic surfaces for preventing *Escherichia coli* binding in the food industry. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 261, 115435. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2026.115435>.
30. Chajęcka-Wierzchowska, W., Gajewska, J., Zakrzewski, A. J., Cavallo, C., & Zadernowska, A. (2023). Molecular analysis of pathogenicity, adhesive matrix molecules (MSCRAMMS) and biofilm genes of coagulase-negative staphylococci isolated from ready-to-eat food. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(2), 1375 <https://doi.org/10.3390/ijerph20021375>.
31. Chautrand, T., Souak, D., Chevalier, S., & Duclairoir-Poc, C. (2022). Gram-negative bacterial envelope homeostasis under oxidative and nitrosative stress *Microorganisms*, 10(5), 924. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050924>.
32. Chen, Q., Wu, Q., Xu, Y., Chen, N., Zhang, J., & Ding, T. (2024). The mixed biofilm formed by *Listeria monocytogenes* and other bacteria: Formation, interaction and control strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
33. Chen, Q., Wu, Q., Xu, Y., Chen, N., Zhang, J., & Ding, T. (2024). The mixed biofilm formed by *Listeria monocytogenes* and other bacteria: Formation, interaction and control strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2024.XXXX>
34. 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 stainlesssteel pipes of a milk-processingdairy plant. *Dairy science & technology*, vol. 96, pp. 27-38.
35. Chhibber, S., & Zgair, A. K. (2022). Adhesion of *Stenotrophomonas maltophilia* to biotic and abiotic surfaces and role of flagella in bacterial adhesion. *World Journal of Experimental Biosciences*, 10(1), 26–31.
36. Chmielewski, R. A. N., & Frank, J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Food Control*, 14(1), 1-10.
37. Chowdhury, M. A. H., Mahamud, A. G. M. S. U., Park, S. H., & Ha, S.-D. (2024). Insights into the mechanisms and key factors influencing biofilm formation by *Aeromonas hydrophila* in the food industry: A comprehensive review and bibliometric analysis. *Food Research International*, 175, 113671. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113671>

Les Références

38. Ciolacu, L., Zand, E., Negrau, C., & Jaeger, H. (2022). Bacterial attachment and biofilm formation on antimicrobial sealants and stainless steel surfaces. *Foods*, 11(19), 3096. <https://doi.org/10.3390/foods11193096>.
39. Ciolacu, L., Zand, E., Negrau, C., & Jaeger, H. (2022). Bacterial attachment and biofilm formation on antimicrobial sealants and stainless steel surfaces. *Foods*, 11(19), 3096. <https://doi.org/10.3390/foods11193096>.
40. Cobo-Simón, M., Hart, R., & Ochman, H. (2023). *Escherichia coli*: What is and which are? *Molecular Biology and Evolution*, 40(1), msac273 <https://doi.org/10.1093/molbev/msac273>.
41. Condinho, M., Carvalho, B., Cruz, A., Pinto, S. N., Arraiano, C. M., & Pobre, V. (2023). The role of RNA regulators, quorum sensing and c-di-GMP in bacterial biofilm formation. *FEBS Open Bio*, 13(6), 975-991 <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13389>.
42. Corcionivoschi, N., Balta, I., McCleery, D., Bunduruş, I., Pet, I., Callaway, T., Nichita, I., Stef, L., & Morariu, S. (2025). Mechanisms of pathogenic *Escherichia coli* attachment to meat. *Foodborne Pathogens and disease* 22(5), 339-349. <https://doi.org/10.1089/fpd.2023.0164>.
43. Damyanova, T., & Paunova-Krasteva, T. (2025). What we still don't know about biofilms- Current overview and key research information. *Microbiology Research*, 16(2), 46. <https://doi.org/10.3390/microbiolres16020046>.
44. Das, S. (2022). Genetic regulation, biosynthesis and applications of extracellular polysaccharides *Carbohydrate Polymers*, 291, 119536 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119536>.
45. Dass, S. C., & Wang, R. (2022). Biofilm through the looking glass: A microbial food safety perspective. *Pathogens*, 11(3), 346 <https://doi.org/10.3390/pathogens11030346>.
46. Dawan, J., Zhang, S., & Ahn, J. (2025). Recent advances in biofilm control technologies for the food industry. *Antibiotics*, 14(3), 254 <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030254>.
47. Dessartine, M. M., Kosta, A., Doan, T., Cascales, É., & Côté, J.-P. (2024). Type 1 fimbriae- mediated collective protection against type 6 secretion system attacks. *mBio*, 15(4), e02553- 23. <https://doi.org/10.1128/mbio.02553-23>.

Les Références

48. Ding, T., Li, X., Zhan, H., Li, Y., Li, Z., & Deng, Y. (2025). Quorum sensing: Its roles in mediating biofilm and viable but non-culturable state formation, and strategies for the prevention and control of foodborne bacteria via quorum quenching. *Food Science and Human Wellness* <https://doi.org/10.26599/FSHW.2024.9250337>.
49. Duan, Q., Pang, S., Feng, L., Liu, J., Lv, L., Li, B., Liang, Y., & Zhu, G. (2022). Heat-labile enterotoxin enhances F4-producing enterotoxigenic *E. coli* adhesion to porcine intestinal epithelial cells by upregulating bacterial adhesins and STb enterotoxin. *Veterinary Research*, 53, 88. <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01110-4>.
50. Dula, S., Kisa, G., & Tesfaye, A. (2021). Bacterial biofilm formation on stainless steel in the food processing environment and its health implications *Folia Microbiologica*, 66(4). <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00864-2>.
51. Dutta Sinha, S., Choudhuri, M., Basu, T., Gupta, D., & Datta, A. (2022) Decisive role of polymer-bovine serum albumin interactions in biofilm substrates on "philicity" and extracellular polymeric substances composition *Langmuir*, 38(6), 1966-1976. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c00187>.
52. El Hafa, Z. et al. (2025). Biocontamination in the dairy industry: The effect of raw milk conditioning film on *Escherichia coli* adhesion. *Czech Journal of Food Sciences*, 43(2), 112-117.
53. Elafify, M., et al. (2024). Biofilm formation in food industries: Challenges and control strategies. *Food Research International* <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996924007208?>
54. Elafify, M., et al. (2024). Biofilm formation in food industries: Challenges and control strategies. *Food Research International* <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996924007208?https://doi.org/101038/s41579-022-00791-0>.
55. Espinoza-Miranda, S. S., Abbaszade, G., Hess, W. R., Drescher, K., & van Oudenaarden, A. (2025). Resolving spatiotemporal dynamics in bacterial multicellular populations: Approaches and challenges. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 89(1), e00138-24 <https://doi.org/10.1128/mmbr.00138-24>.
56. Evans, C. R., Smiley, M. K., Thio, S. A., Wei, M., Florek, L. C., & Dantonio, H. K. (2023). Spatial heterogeneity in biofilm metabolism elicited by local control of phenazine methylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120(43), e2313208120 <https://doi.org/10.1073/pnas.2313208120>.

Les Références

57. Fang, Y., Visvalingam, J., Zhang, P., & Yang, X. (2022). Biofilm formation by non-0157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in monocultures and co-cultures with meat processing surface bacteria. *Food Microbiology*, 102, 103902. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103902>.
58. Feng, A., Akter, S., Leigh, S. A., Wang, H., Pharr, G. T., Evans, J., Branton, S L., Pulido Landinez, M., Pace, L., & Wan, X.-F. (2023). Genomic diversity, pathogenicity and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry in the southern United States. *BMC Microbiology*, 23(1), 15 <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02721-9>.
59. Ferguson, D. L., Gloag, E. S., Parsek, M. R., & Wozniak, D. J. (2023) Extracellular DNA enhances biofilm integrity and mechanical properties of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 205(10), e00238-23 <https://doi.org/10.1128/jb.00238-23>.
60. Fernández-Gómez, P., Muro-Fraguas, I., Música-Vidal, R., Sainz-García, A., Sainz-García, E., González-Raurich, M., Álvarez-Ordóñez, A., Prieto, M., López, M., López, M., Toledano, P., Sáenz, Y., González-Marcos, A., & Alba-Elías, F. (2022). Development and characterization of anti-biofilm coatings applied by non-equilibrium atmospheric plasma on stainless steel. *Food Research International*, 152, 109891. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109891>.
61. Fields, J. A., Thompson, S. A., & Howell, P. L. (2020). Mini-review: The history and future 57, 1-7. in *Microbiology, Opinion Current research. of biofilm* <https://doi.org/10.1016/j.mib.2020.04.003>.
62. Flemming et al., 2023 Flemming, H.-C., van Hullebusch, E. D., Neu, T. R., Nielsen, P. H., Seviour, T., Stoodley, P., Wingender, J., & Wuertz, S. (2023). The biofilm matrix: Multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*, 21(2), 70–86.
63. Flemming, H.-C., van Hullebusch, E. D., Little, B. J., Neu, T. R., Nielsen, P. H., Seviour, T., Stoodley, P., Wingender, J., & Wuertz, S. (2025). Microbial extracellular polymeric substances in the environment, technology and medicine. *Nature Reviews Microbiology*, 23(2), 87-105 <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01098-y>.
64. Flemming, H.-C., van Hullebusch, E. D., Neu, T. R., Nielsen, P. H., Seviour, T., Stoodley, P., Wingender, J., & Wuertz, S. (2023). The biofilm matrix: Multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*, 21(2), 70-86 <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00791-0>.

Les Références

65. Flemming, H.-C., van Hullebusch, E. D., Neu, T. R., Nielsen, P. H., Seviour, T., Stoodley, P., Wingender, J., & Wuertz, S. (2023). The biofilm matrix: Multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*, 21(2), 70-86 <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00791-0>.
66. formation in Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Microorganisms*, 12(2), Article 243. <https://doi.org/10.3390/microorganisms 12020243>
67. Gdoura-Ben Amor, M., Culot, A., Techer, C., Aïreshidi, M., Adnan, M., Jan, S., Baron, F., Grosset, N., Snoussi, M., Gdoura, R., & Gautier, M. (2022). Isolation, partial characterization and application of bacteriophages in eradicating biofilm formation by *Bacillus cereus* on stainless steel surfaces in food processing facilities. *Pathogens*, 11(8), 872 <https://doi.org/10.3390/pathogens 11080872>.
68. Gérard, A., Barbosa, N., Di Tanna, S., & Sindic, M. (2022). Quelles sont les principales sources de contamination du beurre au lait cru par *Escherichia coli*? *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 26(1), 68-77 <https://doi.org/10.25518/1780-4507.19580>.
69. GHRAIR, A. I. (2024). Effet des conditions environnementales sur la formation de biofilm par *Escherichia coli* (Mémoire de master). Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie. Toubi, L., Mouhoub, A., & Maamria, O. (2023) Effet d'un flavonoïde extrait d'une plante médicinale sur la formation de biofilm chez *Escherichia coli* (Mémoire de licence, Université 8 Mai 1945 Guelma, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie). <https://dspace.univ-guelma.dz>.
70. Gomes, L. C., Lima, M., Teixeira-Santos, R., Azevedo, A., Gomes, M., Amin, M., Burmølle, M., Sjollem, J., Mergulhão, F. J., & Whitehead, K. A. (2026) Efficacy of biomimetic surfaces in mitigating *Escherichia coli* biofilms in the presence of an amphiphilic casein conditioning film. *Food and Bioproducts Processing*, 157, 301–311. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2026.03.019>.
71. Guerrero, A. C. (2023). Images and the development of the microbial biofilm concept (Doctoral dissertation, Arizona State University). ProQuest Dissertations & Theses Global. Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease *Antibiotics*, 9(2), 59. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>.
72. Guillin, Y. Ortiz, C & H ;dialao, & (2025). Comparative metabolique study of plank tonic and sessile cells in *Solmonella Enteritidis* ATCC 13076: Elucidating metabols

Les Références

- pathways driving biofilm formation Plos ONE, 20(1), e003174 20.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0317420>
73. Guillín, Y., Ortiz, C., & Hidalgo, W. (2025). Comparative metabolic study of planktonic and sessile cells in *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076: Elucidating metabolic pathways driving biofilm formation. PLOS ONE 20(1), e0317420
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0317420>.
74. Gupta, A., & Guptasarma, P. (2024). *E. coli* cells advance into phase-separated (biofilm-simulating) extracellular polymeric substance containing DNA, HU, and lipopolysaccharide. Journal of Bacteriology, 206(11), e00309-24
<https://doi.org/10.1128/jb.00309-24>.
75. Habouria, H., Bessaiah, H., Pokharel, P., Dhakal, S., Maris, S., Buron, J., Houle, S., & Dozois, C. M. (2022). A newly identified group of P-like (PL) fimbria genes from extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) encode distinct adhesin subunits and mediate adherence to host cells. Applied and Environmental Microbiology, 88(13), e01421-21 <https://doi.org/10.1128/AEM.01421-21>.
76. Hasan, M. I., & Aggarwal, S. (2025). Matrix matters: How extracellular substances shape biofilm structure and mechanical properties. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 246, 114341 <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2024.114341>.
77. Hu, J., Lv, X., Niu, X., Yu, F., Zuo, J., Bao, Y., Yin, H., Huang, C., Nawaz, S., Zhou, W., Jiang, W., Chen, Z., Tu, J., Qi, K., & Han, X. (2022). Effect of nutritional and environmental conditions on biofilm formation of avian pathogenic *Escherichia coli*. Journal of Applied Microbiology, 132(6), 4236-4251. <https://doi.org/10.1111/jam.15543>.
78. Hu, Y., Li, R., Bian, K., Zhou, Q., Pan, Y., Ye, L., Li, A., & Shi, P. (2025). Biofilm formation dynamics in long-distance water conveyance pipelines: Impacts of nutrient levels Water Research, and metal stress. water research, 268(part A), 122672
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122672>.
79. Javed, M. Q., Kovalchuk, I., Yevtushenko, D., Yang, X., & Stanford, K. (2024). Relationship between desiccation tolerance and biofilm formation in Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. Microorganisms, 12(2), Article 243
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12020243>.
80. Javed, M. Q., Kovalchuk, I., Yevtushenko, D., Yang, X., & Stanfora, K. (2024). Relationship between desiccation tolerance and biofilm

Les Références

81. Jha, P. K., Bénézech, T., Deleplace, M., & Faille, C. (2022). La contamination microbienne des surfaces des équipements dans les agro-industries. Dans N. Haddad (Ed.), *Les dangers dans la chaîne de transformation et de distribution des denrées alimentaires*. ISTE Editions.
82. Jiang, L., Yue, Y., Zhong, K., Wu, Y., & Gao, H. (2025). Antibiofilm mechanism of pyrrole- 2-carboxylic acid by impairing flagellar motility of *Listeria monocytogenes* and its application in cheese. *Food Control*, 168, 110974. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110974>.
83. Jo, J., Price-Whelan, A., & Dietrich, L. E. P. (2022). Gradients and consequences of heterogeneity in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 20(10), 593-607. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00692-2>.
84. Jyoti, K. M., Soni, K., & Chandra, R. (2024). Optimization of the production of exopolysaccharide (EPS) from biofilm-forming bacterial consortium using different parameters. *The Microbe*, 4, 100117 <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100117>.
85. Kahraman Ilıkkın, Ö., Gökem Cerit, Z., Cengiz Baloglu, M., & Yılmaz, R. (2025). Microbial monitoring and resistome analysis in white cheese production at a dairy plant: MALDI-TOF MS and shotgun metagenomics approaches. *Food Research International*, 221 (Part 3), 117432 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.117432>.
86. Kim, J.-S., Lim, M.-C., Kim, S.-M., & Lee, J.-Y. (2023). Extracellular matrix-degrading enzymes as a biofilm control strategy for food-related microorganisms. *Food Science and Biotechnology*, 32(12), 1745-1761 <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01373-3>.
87. Kim, U., Kim, J.-H., & Oh, S.-W. (2022). Review of multi-species biofilm formation from foodborne pathogens: Multi-species biofilms and removal methodology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(21), 5783-5793 <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1892585>.
88. Kwok, T.-Y., Ma, Y., & Chua, S. L. (2022). Biofilm dispersal induced by mechanical cutting leads to heightened foodborne pathogen dissemination. *Food Microbiology*, 102, 103914. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103914>.
89. Ledvina, H. E., Sayegh, R., Carale, R. O., Burroughs, A. M., Macklin, A. R., Azadeh, A. L., Borja Najera, L. D., Aravind, L., & Whiteley, A. T. (2025) Functional amyloid proteins confer defence against predatory bacteria. *Nature*, 644(8075), 197-204. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-09204-7>.

Les Références

90. Lee, J.-H., Kim, Y.-G., & Lee, J. (2024) Antibiofilm activity of lawsone against polymicrobial enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7 and *Candida albicans* by suppression of curli production and hyphal growth. *Phytomedicine*, 124, 155306. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.155306>.
91. Li, H., Liu, H., Zhang, L., Hieawy, A., & Shen, Y. (2023). Evaluation of extracellular Sciences, polymeric substances matrix volume, surface roughness and bacterial adhesion property of oral biofilm. *Journal of Dental* 18(4), 1723-1730 <https://doi.org/10.1016/j.jds.2022.12.022>.
92. Li, J., Ning, C., Li, N., Guo, Y., Ji, C., Zhu, X., Zhang, X., Meng, Q., Xia, X., & Cai, X. (2022). The small RNA STnc1480 contributes to the regulation of biofilm formation and pathogenicity in *Salmonella typhimurium*. *Archives of Microbiology*, 204, 716. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03331-9>.
93. Li, P., Zong, W., Zhang, Z., Lv, W., Ji, X., Zhu, D., Du, X., & Wang, S. (2023). Effects and molecular mechanism of flagellar gene *flgK* on the motility, adhesion/invasion, and desiccation resistance of *Cronobacter sakazakii*. *Food Research International*, 164, 112418. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112418>.
94. Li, Q., Liu, L., Guo, A., Zhang, X., Liu, W., & Ruan, Y. (2021). Formation of multispecies biofilms and their resistance to disinfectants in food processing environments: A review. *Journal of Food Protection*, 84(12), 2071-2083 <https://doi.org/10.4315/JFP-21-071>.
95. Li, S., Sun, H., Li, J., Zhao, Y., Wang, R., Xu, L., Duan, C., Li, J., Wang, Z., Liu, Q., Wang, Y., Ouyang, S., Shen, X., & Zhang, L. (2022). Autoinducer-2 and bile salts induce c-di-GMP synthesis to repress the T3SS via a T3SS chaperone. *Nature Communications*, 13, 6684. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34607-9>.
96. Li, Y., Liang, X., Chen, N., Yuan, X., Wang, J., Wu, Q., & Ding, Y. (2025). The promotion of biofilm dispersion: A new strategy for eliminating foodborne pathogens in the food industry *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 65(15), 2976-3000. <https://doi.org/10.1080/10408398.2024.2354524>.
97. Liu, H. Y., Prentice, E. L., & Webber, M. A. (2024). Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. *npj Antimicrobials and Resistance*, 2, 27 <https://doi.org/10.1038/s44259-024-00046-3>.

Les Références

98. Liu, H. Y., prentice, E.L.. & Webber, M. A. (2024). Mechanisms anti microliol resistance in biofilm.npj Antimicrobiol and Resistance, 2, 27. <https://doi.org/10.1038/544259-02400046-3>.
99. Liu, Q., Li, R., Qu, W., Tian, X., Zhang, Y., & Wang, W. (2023). Influence of surface properties on the adhesion of bacteria onto different casings. Food Research International, 164, 112463 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112463>.
100. Liu, X., Yao, H., Zhao, X., & Ge, C. (2023). Biofilm formation and control of foodborne pathogenic bacteria. Molecules, 28(6), 2432 <https://doi.org/10.3390/molecules28062432>.
101. Liu, X., Yao, H., Zhao, X., & Ge, C. (2023). Biofilm formation and control of foodborne pathogenic bacteria. Molecules, 28(6), 2432. [tps://doi.org/10.3390/molecules28062432](https://doi.org/10.3390/molecules28062432)
102. LPotapova, A., Garvey, W., Dahl, P., Guo, S., Chang, Y., Schwechheimer, C., Trebino, M. A., Floyd, K. A., Phinney, B. S., Liu, J., Malvankar, N. S., & Yildiz, F. H. (2024). Outer membrane vesicles and the outer membrane protein OmpU govern Vibrio cholerae biofilm matrix assembly. mBio, 15(2), e03304-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.03304-23>.
103. Maher, C., & Hassan, K. A. (2023). The Gram-negative permeability barrier: Tipping the balance of the in and the out. mBio, 14(6), e01205-23 <https://doi.org/10.1128/mbio.01205-23>.
104. Marti, R. et al. (2017). Biofilm formation potential of heat-resistant Escherichia coli dairy isolates. Applied and Environmental Microbiology, 83(15).
105. Maurya, A., Kumar, P. S., & Raj, A. (2022). Characterization of biofilm formation and reduction of hexavalent chromium by bacteria isolated from tannery sludge. Chemosphere, 286, 131795 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131795>.
106. Maurya, A., Kumar, P. S., & Raj, A. (2022). Characterization of biofilm formation and reduction of hexavalent chromium by bacteria isolated from tannery sludge. Chemosphere, 286, 131795. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131795>
107. Mayer, C., Borges, A., Flament-Simon, S.-C., & Simões, M. (2023). Quorum sensing architecture network in Escherichia coli virulence and pathogenesis. FEMS Microbiology Reviews, 47(4), fuad031 <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad031>.
108. Mazaheri, T., Cervantes-Huamán, B. R. H., Turitich, L., Ripollés-Avila, C., & Rodríguez- Jerez, J. J. (2022). Removal of Listeria monocytogenes biofilms on stainless steel surfaces through conventional and alternative cleaning solutions. International

Les Références

- Journal of Food Microbiology, 381, 109888.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109888>.
109. Mi, J., Yu, Z., Yu, H., & Zhou, W. (2024). Quorum sensing systems in foodborne *Salmonella* 144, spp. and corresponding control strategies using quorum sensing inhibitors for food storage. *Trends in Food science & Technology*, 144, 104320. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104320>.
110. Midelet, G., Brauge, T., & Faille, C. (2024). Contamination croisée des aliments par des surfaces contaminées. Dans T. Bénézech & C. Faille (Eds.), *Contrôle et prévention des risques biologiques associés à la contamination des aliments: Transformation, distribution et utilisation par le consommateur*. ISTE Group.
111. Minamino, T., & Kinoshita, M. (2023). Structure, assembly, and function of flagella responsible for bacterial locomotion. *EcoSal Plus*, 11(1), eESP-0011-2023. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0011-2023>.
112. Mouhoub, T. L., Maamria, A., & Ouiame. (2023). Effet d'un flavonoïde extrait d'une plante médicinale sur la formation de biofilm chez *Escherichia coli* (Mémoire de licence/master, SNV, STU). espace.univ-guelma.dz.
113. Mu, M., Liu, S., DeFlorio, W., Hao, L., Wang, X., Solis Salazar, K., Taylor, M., Castillo, A., Cisneros-Zevallos, L., Oh, J. K., Min, Y., & Akbulut, M. (2023). Influence of surface roughness, nanostructure, and wetting on bacterial adhesion. *Langmuir*, 39(15), 5426-5439 <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c00091>.
114. Niboucha, N. (2025). Approche intégrée pour l'étude des biofilms laitiers : caractérisation métataxonomique, optimisation de méthodes de prélèvement et développement de nouvelles stratégies antibiofilms (mémoire/thèse). Université Laval. <https://corpus.ulaval.ca>.
115. Nkemngong, C., & Teska, P. (2024). Biofilms, mobile genetic elements and the persistence of pathogens on environmental surfaces in healthcare and food processing environments. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1405428 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1405428>.
116. Nwakoby, I. P., Iheukwumere, I. H., Iheukwumere, C. M., Nwakoby, N. E., Idigo, M. A., & Ike, V. E. (2025). Microbial contamination in dairy products and its legal implications *African Journal of Nutrition and Applied Research*, 1(1), 9–16. <https://doi.org/10.54117/j2hx1174>.

Les Références

117. Obando, M. C., & Serra, D. O. (2024). Dissecting cell heterogeneities in bacterial biofilms and their implications for antibiotic tolerance. *Current Opinion in Microbiology*, 78, 102450 <https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102450>.
118. Okito, A. M., Wagacha, J. M., Lukhoba, C. W., Lina, A. A., & Mukabana, W. R. (2025). Food and water safety risks from *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* contamination in Bukavu City, Democratic Republic of the Congo. *Cureus*, 17(3), e79951. <https://doi.org/10.7759/cureus.79951>.
119. Okwuanaso, C. B., Onyemelukwe, N. F., & Ofodile, C. A. (2025). Prevalence and pattern of carriage of Enterobacterales isolates among food handlers in Nnewi metropolis, southeast Nigeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 26(1), 30–38 <https://doi.org/10.4314/ajcem.v26i1.5>.
120. Olaimat, A. N., Ababneh, A. M., Al-Holy, M., Al-Nabulsi, A., Osaili, T., Abughoush, M., Ayyash, M., & Holley, R. A. (2024). A review of bacterial biofilm components and formation, detection methods, and their prevention and control on food contact surfaces. *Microbiology Research*, 15(4), 1973-1992 <https://doi.org/10.3390/microbiolres15040132>.
121. Olaimot, A.N., Abobneh. A.M., Al-Holy, M., Al-Nabulsi, A., Osaili, T., Abughoush, M., Ayyash, M., & Holley. R. A. (2024). A review of bacterial biofilm components and formation, detection methods, and their prevention and control on food contact surfaces. *Microbiology Research*, 15(4), 1973. 1992. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15040132>.
122. Oldewurtel, E. R., Kitahara, Y., Cordier, B., Wheeler, R., Özbavkal, G., Brambilla, E., & Holden, S. J. (2023). Cell envelope growth of Gram-negative bacteria proceeds independently of cell wall synthesis. *The EMBO Journal*, 42(14), e112168. <https://doi.org/10.15252/emboj.2022112168>.
123. Origine et dynamique d'*Escherichia coli* dans le fleuve Saint-Laurent sous l'influence des apports anthropiques (Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Trois-Rivières) Omar, A. N., Chirnside, A. E. M., & Kniel, K. E, (2025) Exploring novel fungal bioremediation treatments to inhibit pollutants and microbial hazards associated with untreated biological soil amendments of animal origin. *Microorganisms*, 13(12), 2847.

Les Références

124. Osek, J., Lachtara, B., & Wieczorek, K. (2022). *Listeria monocytogenes*-How this pathogen survives in food-production environments? *Frontiers in Microbiology*, 13, 866462. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866462>.
125. Osek, J., Lachtara, B., & Wieczorek, K. (2022). *Listeria monocytogenes*-How this pathogen survives in food-production environments? *Frontiers in Microbiology*, 13, 866462. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.866462>
126. Öztürk F.Y. et al. (2022). The determination, monitoring, molecular mechanisms and formation of biofilm in *E. coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54, 259–277.
127. Öztürk, F. Y., Darcan, C., & Kariptaş, E. (2022). The determination, monitoring, molecular mechanisms and formation of biofilm in *E. coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(1), 259-277. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00895-y>
128. Pang, X., Wang, Y., Feng, Z., Xu, R., Sun, J., Li, X., Lu, Y., & Yuk, H.-G. (2025). Quorum, sensing in *Listeria monocytogenes* and control strategies for its inhibition in the food industry. *International Journal Of Food Microbiology*, 111518 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2025.111518>.
129. Pant, K. J., Cotter, P. D., Wilkinson, M. G., & Sheehan, J. J. (2023). Towards sustainable cleaning-in-place (CIP) in dairy processing: Exploring enzyme-based approaches to cleaning in the cheese industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(5), 3602-3619. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13206>.
130. Pathirajah, J. P., Balamurugan, S., Arvaj, L., Weiss, J., & Barbut, S. (2022) Influence of different stainless steel finishes on biofilm formation by *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 85(11), 1584-1593 <https://doi.org/10.4315/JFP-22-112>.
131. Pavlova, M. D., Asaturova, A. M., & Kozitsyn, A. E. (2022). Bacterial cell shape: Some features of ultrastructure, evolution, and ecology. *Biology Bulletin Reviews*, 12(3), 254–265. <https://doi.org/10.1134/S2079086422030070>.
132. Pereira Perez Alonso, V., Furtado, M. M., Iwase, C. H. T., Brondi-Mendes, J. Z., & Nascimento, M. da S. (2024). Microbial resistance to sanitizers in the food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(3), 654-669 <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2107996>.
133. Pereira Perez Alonso, V., Gonçalves, M. P. M. B. B., de Brito, F. A. E., Barboza, G. R., Rocha, L. de O., & Silva, N. C. C. (2023). Dry surface biofilms in the food processing industry: An overview on surface characteristics, adhesion and biofilm formation, detection of biofilms, and dry sanitization methods. *Comprehensive Reviews*

Les Références

- in Food Science and Food Safety, 22(1), 688-713. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13089>.
134. Pérez-Alonso, V. P., Gonçalves, M. P. M. B. B., de Brito, F. A. E., Barboza, G. R., Rocha, L. de O., & Silva, N. C. C. (2023). Dry surface biofilms in the food processing industry: An overview on surface characteristics, adhesion and biofilm formation, detection of biofilms, and dry sanitization methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 22(1), 688-713. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13089>.
135. Potapova, A., Garvey, W., Dahl, P., Guo, S., Chan, Y., Schwechheimer, C., Trebino, M. A., Floyd, K. A., Phinney, B. S., Liu, J., Malvankar, N. S., & Yildiz, F. H. (2024). Outer membrane vesicles and the outer membrane protein OmpU govern *Vibrio cholerae* biofilm matrix assembly. *mBio*, 15(2), e03304-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.03304-23>.
136. Quan, K., Hou, J., Zhang, Z., Ren, Y., Peterson, B. W., Flemming, H.-C., & Chen, Y. (2022). Water in bacterial biofilms: Pores and channels, storage and transport functions. *Critical Reviews in Microbiology*, 48(3), 283-302 <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1962802>.
137. Ragupathi, H., Pushparaj, M. M., Gopi, S. M., & Govindarajan, D. (2024). Biofilm matrix: A multifaceted layer of biomolecules and a defensive barrier against antimicrobials. *Archives of Microbiology*, 206(11), 432 <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04157-3>.
138. Rahman, M. A., Akter, S., Ashrafudoulla, M.,
139. Rahman, M. A., Akter, S., Ashrafudoulla, M., Chowdhury, M. A. H., Mahamud, A. G. M. S. U., Park, S. H., & Ha, S.-D. (2024). Insights into the mechanisms and key factors influencing biofilm formation by *Aeromonas hydrophila* in the food industry: A comprehensive review and bibliometric analysis *Food Research International*, 175, 113671 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113671>.
140. Rath, S., Fatma, S., & Das, S. (2025). Unraveling the multifaceted role of extracellular DNA (eDNA) of biofilm in bacterial physiology, biofilm formation, and matrixome architecture. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 60(1–3), 60(1-3), 1-32 <https://doi.org/10.1080/10409238.2025.2497270>.
141. Rathi, B., Gupta, S., Kumar, P., Kesarwani, V., Dhanda, R. S., Kushwaha, S. K., & Yadav, M. (2022). Anti-biofilm activity of caffeine against uropathogenic *Escherichia*

Les Références

- coli is mediated by curli biogenesis. *Scientific Reports*, 12(1), 18903 <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23647-2>.
142. Reichhardt, C. (2023). The *Pseudomonas aeruginosa* biofilm matrix protein CdrA has similarities to other fibrillar adhesin proteins. *Journal of Bacteriology*, 205(5), e00019-23. <https://doi.org/10.1128/jb.00019-23>.
143. Reisner A. et al. (2006). Development and maturation of *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Molecular Microbiology*, 48, 933–946.
144. Ribeiro, T. A. N., dos Santos, G. A., dos Santos, C. T., Soares, D. C. F., Saraiva, M. F., Leal, D. H. S., & Sachs, D. (2024). Eugenol as a promising antibiofilm and anti-quorum sensing A agent: systematic review. *Microbial Pathogenesis*, 196, 106937. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106937>.
145. Richter, M. (2025). Identification et caractérisation de microorganismes isolés de produits laitiers non conformes à la suite de tests de maintien de la qualité (Mémoire de maîtrise). Université Laval. Disponible sur : corpus.ulaval.ca.
146. Römling, U. (2023). Is biofilm formation intrinsic to the origin of life? *Environmental Microbiology*, 25(1), 26-39. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.16179>.
147. Sadeghzadeh, R., Esfandiari, Z., Mousavi Khaneghah, A., & Rostami, M (2024). A review of challenges and solutions of biofilm formation of *Escherichia coli*: Conventional and novel methods of prevention and control *Food and Bioprocess Technology*, 17, 2583-2618 <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03288-7>.
148. Saharan, B. S., Beniwal, N., & Duhan, J. S. (2024). From formulation to function: A detailed review of microbial biofilms and their polymer-based extracellular substances. *The Microbe*, 5, 100194 <https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100194>.
149. Saint Martin, C. (2022). Étude de l'organisation spatiale et de l'hétérogénéité phénotypique d'*Escherichia coli* O157:H7 et *Listeria monocytogenes* dans des matrices gélifiées modèles* (Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay, France).
150. Sanschagrín, L. (2024). Identification et caractérisation de microorganismes associés à des produits laitiers non conformes et/ou atypiques issus de l'industrie laitière québécoise (mémoire/thèse). Université Laval. <https://corpus.ulaval.ca>.
151. Sarba, E. J., Wirtu, W., Gebremedhin, E. Z., Borena, B. M., & Marami, L. M. (2023). Occurrence and antimicrobial susceptibility patterns of *Escherichia coli* and

Les Références

- Escherichia coli* 0157 isolated from cow milk and milk products, Ethiopia Scientific Reports, 13, 16018. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43043-8>.
152. Sauer, K., Stoodley, P., Goeres, D. M., Hall-Stoodley, L., Burmølle, M., & Stewart, P. S. (2022). The biofilm life cycle: Expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature Reviews Microbiology*, 20(10), 608-620. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00767-0>.
153. Saxena, I. M., Brown, R. M., Dandekar, T., & Sutherland, I. W. (2022). Microbial exopolysaccharides: Structure, biosynthesis and applications. *Biotechnology Advances*, 58, 107913 <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.107913>.
154. Sharan, M., Vijay, D., Dhaka, P., Bedi, J. S., & Gill, J. P. S. (2022). Biofilms as a microbial hazard in the food industry: A scoping review. *Journal of Applied Microbiology*, 133(4), 2210-2234. <https://doi.org/10.1111/jam.15766>.
155. Sharma, D. K., & Rajpurohit, Y. S. (2024). Multitasking functions of bacterial extracellular DNA in biofilms. *Journal of Bacteriology*, 206(4), e00006-24 <https://doi.org/10.1128/jb.00006-24>.
156. Shineh, G., Mobaraki, M., Bappy, M. J. P., & Mills, D. K. (2023). Biofilm formation, and related impacts on healthcare, food processing and packaging, industrial manufacturing, marine industries, and sanitation-A review. *Applied Microbiology*, 3(3), 629–665. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3030044>.
157. Shineh, G., Mobaraki, M., Bappy, M. J. P., & Mills, D. K. (2023). Biofilm formation, and Shot ontMER Rare, food processing and packaging, industrial manufacturing, marine industries, and sanitation-A review. *Applied Microbiology*, 3(3), 629–665. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3030044>.
158. Silva, A. R., Melo, L. F., Keevil, C. W., & Pereira, A. (2024). Legionella colonization and 3D spatial location within a Pseudomonas biofilm. *Scientific Reports*, 14(1), 16834. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-67712-4>.
159. Siri, M., Vázquez-Dávila, M., Sotelo Guzman, C., & Bidan, C. M. (2024). Nutrient availability influences *Escherichia coli* biofilm properties and the structure of purified curli amyloid fibers. *npj Biofilms and Microbiomes*, 10, 143. <https://doi.org/10.1038/s41522-024-00619-0>.
160. Skilbeck, M. G., Cannon, R. D., Farella, M., & Mei, L. (2023). The effect of surface roughening of orthodontic elastomers on hydrophobicity and in vitro adherence

Les Références

- of *Streptococcus gordonii*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 143, 105881. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.105881>.
161. Slate, A. J., Wilson-Nieuwenhuis, J. S. T., Spall, J. H., & Whitehead, K. A (2024). Rôle des surfaces et phénomène microbien. In Bénézech, T., & Faille, C (Eds.), *Contrôle et prévention des risques biologiques associés à la contamination des aliments: Transformation, distribution et utilisation par le consommateur* (Chap. 5, p. 87). ISTE Editions.
162. Stanford, K. (2021). Biofilm-forming capacity of *Escherichia coli* isolated from cattle and beef packing plants: Relation to virulence attributes, stage of processing, antimicrobial interventions, and heat tolerance. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(23). <https://doi.org/10.1128/AEM.01126-21>
163. Sun, L., Xu, B., Tao, Y., Liang, Y., & Chen, X. (2025). Exploring intervention strategies for microbial biofilms in the food industry based on a biomolecular mechanism perspective: trends. *Foods, Recent advances and emerging* 14(24), 4192. <https://doi.org/10.3390/foods14244192>.
164. Tadielo, L. E., dos Santos, E. A. R., Possebon, F. S., Schmiedt, J. A., Juliano, L C. B., Cerqueira-Cézar, C. K., de Oliveira, J. P., Sampaio, A. N. da C. E., Melo, P. R. L., Caron, E. F. F., Pinto, J P. de A. N., Bersot, L. dos S., & Pereira, J. G (2023). Characterization of microbial ecology, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* sp. on equipment and utensil surfaces in Brazilian poultry, pork, and dairy industries. *Food Research International*, 173 (Part 2), 113422 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113422>.
165. Talluri, S. N. L., Winter, R. M., & Salem, D. R. (2021). Nanoscale characteristics of conditioning film development on photobioreactor materials: Influence on the initial adhesion and biofilm formation by a cyanobacterium. *Biofouling, cyanobacterium. Biofouling*, 37(7), 777-790. <https://doi.org/10.1080/08927014.2021.1971201>.
166. Tian, X., Li, T., Liu, Y., Tian, Y., Li, Z., Wang, Y., Ma, Y., Li, Y., Wang, X., & Wen, H. (2025). Based on surface roughness and hydrophobicity to reduce the bacterial adhesion to collagen films for the ability to enhance the shelf life of food. *Food Packaging and Shelf Life*, 48, 101473. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2025.101473>.
167. Venkateswaran, P., Lakshmanan, P. M., Muthukrishnan, S., Bhagavathi, H., Vasudevan, S., Neelakantan, P., & Solomon, A. P. (2022). Hidden agenda of *Enterococcus faecalis* lifestyle state. *Future Microbiology*, 17, 1051–1069 transition: Planktonic to sessile <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0212>.

Les Références

168. Venkateswraron, P., Lakshmanan, P.M., Muthukrishnan, S. Bhagavathi,H. , Vasudevan, S., Neelakanton, P., & Solomon, A.P. (2022). Hidden agenda of *Enterococcus faecalis* lifestyle transition : Planktonic to sessile state. *Future Microbiology*, 17, 1051-1069. <https://doi.org/10.2217/Fmb-2021-0212>
169. Vidács, A., Bencsik-Kerekes, E. B., Ramteke, P. W., Vágvolgyi, C., & Krisch, J. (2024). ,Essential oil efficacy impaired by food residues in food pathogen adhesion. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 49, 107-119 <https://doi.org/10.1007/s13369-023-08415-2>.
170. Vilas Boas, D., Castro, J., Araújo, D., Nóbrega, F. L., Keevil, C. W., & Azevedo, N. F(2024. The role of flagellum and flagellum-based motility on *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* biofilm). *formation Microorganisms*, and 12(2) 232., <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020232>.
171. Wang, S., Zhao, Y., Breslawec, A. P., Liang, T., Deng, Z., & Kuperman, L. L. (2023). Strategy to combat biofilms: A focus on biofilm dispersal enzymes. *npj Biofilms and Microbiomes*, 9, 63. <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00427-y>.
172. Wang, Y., Li, T., Xue, W., Zheng, Y., Wan, Y., Zhan, N., Zhao, Y., Wan, J., & Li, Y. (2022). Physicochemical and biological insights into the molecular interactions between extracellular DNA and exopolysaccharides in *Myxococcus xanthus* biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 13, 861865 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.861865>.
173. Wang, Z., Yan, Q., Song, M., Aimaier, X., Liu, X., Zhang, B., Han, Z., Liu, Y., Dan, Y., Huang, J., Hu, X., Wen, J., & Li, H. (2025). *Bacillus licheniformis* extracellular polymeric substances conditioning layer mediates the bacterial adhesion behaviors toward controlled biofilm formation. *Langmuir*, 41(10), 6578-6591. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.4c04292>.
174. Wu, B., Wang, H., Li, W., Dai, X., & Chai, X. (2022). Influential mechanism of water 118169. 213, Research, occurrence states of waste-activated sludge: Potential linkage between water-holding capacity of EPS. *Water and molecular compositions* <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118169>.
175. Xu, L., Wang, W., Zhang, X., Ma, K., Wang, H., & Xue, T. (2024). Role of LsrR in the regulation of biofilm formation in mammary pathogenic *Escherichia coli*. *BMC Veterinary Research*, 20, 220. <https://doi.org/10.1186/s12917-024-04086-9>.
176. Xu, Z. S., Ju, T., Yang, X., & Gänzle, M. (2023). A meta-analysis of bacterial communities in food processing facilities: Driving forces for assembly of core and

Les Références

- accessory microbiomes across different food commodities. *Microorganisms*, 11(6), 1575. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061575>.
177. Yan, C.-H., Chen, F.-H., Yang, Y.-L., Zhan, Y.-F., Herman, R. A., Gong, L.-C., & Shen, A. (2023). The transcription factor CsgD contributes to engineered *Escherichia coli* resistance by regulating biofilm formation and stress responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), 13681 <https://doi.org/10.3390/ijms241813681>.
178. Yang, K., Wang, L., Cao, X., Gu, Z., Zhao, G., Ran, M., Yan, Y., & Jin, Y. (2022). The origin, function, distribution, quantification, and research advances of extracellular DNA. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 13690. <https://doi.org/10.3390/ijms232213690>.
179. Yang, S. Y., & Yoon, K. S. (2022). Quantitative microbial risk assessment of *Listeria monocytogenes* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* in yogurt Foods, 11(7), 971. <https://doi.org/10.3390/foods11070971>.
180. Yang, X., Narvaez-Bravo, C., & Zhang, P. (2024). Driving forces shaping the microbial ecology in meat packing plants. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1333696. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1333696>.
181. Yang, X., Tran, F., & Zhang, P. (2023). Comparative genomic analyses of *Escherichia coli* from a meat processing environment in relation to their biofilm formation and persistence. *Microbiology Spectrum*, 11(3), e00183-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00183-23>.
182. Yang, Y., Yan, X., Redding, M., Gu, G., Luo, Y., Patel, J. R., & Nou, X. (2025). Biofilm formation of *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with recent reoccurring lettuce outbreaks. *Food Microbiology*, 128, 104728. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2025.104728>.
183. Yuan, J., Yan, J., & Xie, J. (2025). Characterization, social relationships and control of mixed biofilms in dairy processing: A comprehensive review. *Journal of Dairy Research*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1017/S0022029925101647>.
184. Zayed, A., Mansour, M. K., Sedeek, M. S., Habib, M. H., Ulber, R., & Farag, M. A. (2022). Rediscovering bacterial exopolysaccharides of terrestrial and marine origins: Novel insights on their distribution, biosynthesis, biotechnological production, and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(4), 597–617. <https://doi.org/10.1080/073885512021.1942779>

Les Références

185. Zeng, L., Walker, A. R., Burne, R. A., & Taylor, Z. A. (2023). Glucose phosphotransferase system modulates pyruvate metabolism, bacterial fitness, and microbial ecology in oral streptococci. *Journal of Bacteriology*, 205(1), e00352-22. <https://doi.org/10.1128/jb.00352-22>.
186. Zhai, Y., Tian, W., Chen, K., Lan, L., Kan, J., & Shi, H. (2024). Flagella-mediated adhesion, of *Escherichia coli* O157:H7 to surfaces of stainless steel, glass, and fresh produce during sublethal injury and recovery. *Food Microbiology*, 117, 104383. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104383>.
187. Zhang, H., Zhai, Y., Chen, K., & Shi, H. (2023). Adhesion of *Escherichia coli* O157:H7 during sublethal injury and resuscitation: Importance of pili and surface properties. *Food Microbiology*, 115, 104329 <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104329>.
188. Zhang, P., Liu, L., Sheng, H., Zhang, M., Wang, T., Chang, G., Wang, Y., Bai, L., & Wang, X. (2024). Antibiotic resistance and genomic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from dairy cattle, raw milk, and farm environment in Shaanxi Province, China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 21(10), 624-635. <https://doi.org/10.1089/fpd.2023.0098>.
189. Zhang, Y., Cai, Y., Zeng, L., Liu, P., Ma, L. Z., & Liu, J. (2022). A microfluidic approach for quantitative study of spatial heterogeneity in bacterial biofilms *Small Science*, 2(10), 2200047. <https://doi.org/10.1002/smsc.202200047>.
190. Zhang, Y., Wu, Q., Forsythe, S., Liu, C., Chen, N., Li, Y., & Zhang, J. (2023) The cascade regulation of small RNA and quorum sensing system: Focusing on biofilm formation of 102472. *Food Bioscience*, 52, foodborne pathogens in food industry. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102472>.
191. Zhang, Y., Wu, Q., Forsythe, S., Liu, C., Chen, N., Li, Y., & Zhang, J. (2023) The cascade Food Bioscience, regulation of small RNA and quorum sensing system: Focusing on biofilm formation of foodborne pathogens in food industry. 52, 102472. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102472>.
192. Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1137947. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>.
193. Zhao, X., Höfte, M., Spanoghe, P., Rajkovic, A., & Uyttendaele, M. (2024). Biofilm-forming ability of *Bacillus thuringiensis* strains from biopesticides on

Les Références

- polystyrene and their attachment Protection, on spinach. *Journal of Food* 87(8), Article 100321. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100321>.
194. Zhao, X., Höfte, M., Spanoghe, P., Rajkovic, A., & Uyttendaele, M. (2024). Biofilm- forming ability of *Bacillus thuringiensis* strains from biopesticides on polystyrene and their attachment on spinach. *Journal of Food Protection*, 87(Article 100321. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100321>
195. Zhao, X., Sun, Y., Ma, Y., Xu, Y., Guan, H., & Wang, D. (2024). Research advances on the contamination of vegetables by enterohemorrhagic *Escherichia coli*: Pathways, processes and interaction. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(14), 4833-4847. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2146045>.
196. Zhou F. et al. (2022). Control measurements of *Escherichia coli* biofilm: A review. *Foods*, 11, 2469.
197. Zhou, F., Wang, D., Hu, J., Zhang, Y., Tan, B. K., & Lin, S. (2022). Control measurements of *Escherichia coli* biofilm: A review. *Foods*, 11(16), 2469 <https://doi.org/10.3390/foods11162469>.
198. Zhou, F., Wang, D., Hu, J., Zhang, Y., Tan, B. K., & Lin, S. (2022). Control measurements of *Escherichia coli* biofilm: A review. *Foods*, 11(16), 2469 <https://doi.org/10.3390/foods11162469>.
199. Zhou, F., Wang, D., Hu, J., Zhang, Y., Tan, B. K., & Lin, S. (2022). Control measurements of *Escherichia coli* biofilm: A review. *Foods*, 11(16), 2469. <https://doi.org/10.3390/foods11162469>
200. Zhou, L., Zhang, Y., Ge, Y., Zhu, X., & Pan, J. (2020). Regulatory mechanisms and promising applications of quorum sensing-inhibiting agents in control of bacterial biofilm formation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 589640 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.589640>.
201. Zhu, T., Yang, C., Bao, X., Chen, F., & Guo, X. (2022). Strategies for controlling biofilm formation in food industry. *Grain & Oil Science and Technology*, 5(4), 179-186. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2022.06.003>.

يمثل الغشاء الحيوي البكتيري مجتمعًا منظمًا من الكائنات الحية الدقيقة الملتصقة بالأسطح، والمحمية بمصفوفة خارج الخلية (EPS). يمنح هذا الهيكل فوائد تكيفية للبكتيريا، بما في ذلك مقاومة الضغوط البيئية والعوامل المضادة للميكروبات. في سياق الأغذية الزراعية، يشكل تكوين الأغشية الحيوية بواسطة *Escherichia coli* تحديًا كبيرًا للسلامة الصحية، نظرًا لاستمرارها على المعدات وأسطح الإنتاج.

تركز هذه الدراسة على ثلاث سلالات من *E. coli* (*E. coli* 73، *E. coli* 82، و *E. coli* ATCC 25922) المعزولة من أقمشة إنتاج الحليب الخام قبل وبعد البسترة. تم توصيف السلالات شكليًا ووراثيًا (RAPD-PCR، ARDRA، تسلسل S16)، ثم تم تقييم قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية في المختبر على الألواح الدقيقة وأسطح الفولاذ المقاوم للصدأ. تم فحص تأثير درجة الحرارة (20، 30، 40 °C) ووقت الحضانة (2، 4، 6 و 24 ساعة على إنتاج الأغشية الحيوية بطريقة التلوين البنفسجي البلوري). تم أيضًا تقييم تأثير تكييف الحليب كامل الدسم UHT على أسطح الفولاذ المقاوم للصدأ على تكوين الأغشية الحيوية بواسطة نفس السلالات.

وأظهرت النتائج أن تكوين الأغشية الحيوية يختلف حسب السلالة ودرجة الحرارة ووقت الحضانة. أظهرت سلالة *E. coli* 82 أعلى قدرة إنتاجية، مع كثافة بصرية قصوى تبلغ 30 °C بعد 24 ساعة. كما أن وجود طبقة تكييف على الفولاذ المقاوم للصدأ يعزز الالتصاق البكتيري. وتسلط هذه الملاحظات الضوء على أهمية الظروف البيئية والعوامل السطحية في استمرار الأغشية الحيوية لبكتيريا *E. coli* في صناعة الأغذية، وتسلط الضوء على الحاجة إلى استراتيجيات مكافحة فعالة للحد من مخاطر التلوث.

Abstract :

The bacterial biofilm represents an organized community of microorganisms adhering to surfaces, protected by an extracellular matrix (EPS). This structure confers adaptive benefits to bacteria, including resistance to environmental stresses and antimicrobial agents. In the agri-food context, the formation of biofilm by *Escherichia coli* constitutes a major challenge for health safety, due to its persistence on equipment and production surfaces.

This study is focused on three strains of *E. coli* (*E. coli* 73, *E. coli* 82 and *E. coli* ATCC 25922) isolated from raw milk production cloths before and after pasteurization. The strains were characterized morphologically and genetically (RAPD-PCR, ARDRA, 16S sequencing), then their biofilm formation capacity was evaluated in vitro on microplates and stainless steel surfaces. The effect of temperature (20, 30, 40 °C) and incubation time (2, 4, 6 and 24 h) on biofilm production was examined by the crystal violet staining method. The effect of UHT whole milk conditioning on stainless steel surfaces on biofilm formation by the same strains was also evaluated.

The results showed that biofilm formation varies depending on the strain, temperature and incubation time. The *E. coli* 82 strain showed the highest production capacity, with a maximum optical density of 30 °C after 24 h. The presence of a conditioning film on stainless steel also promoted bacterial adhesion. These observations highlight the importance of environmental conditions and surface factors in the persistence of *E. coli* biofilms in the food industry, and highlight the need for effective control strategies to limit the risks of contamination.

Résumé:

Le biofilm bactérien représente une communauté organisée de micro-organismes adhérant à des surfaces, protégée par une matrice extracellulaire (EPS). Cette structure confère aux bactéries des avantages adaptatifs, incluant la résistance aux stress environnementaux et aux agents antimicrobiens. Dans le contexte agroalimentaire, la formation de biofilm par *Escherichia coli* constitue un enjeu majeur pour la sécurité sanitaire, en raison de sa persistance sur les équipements et surfaces de production.

Cette étude est portée sur trois souches d'*E. coli* (*E. coli* 73, *E. coli* 82 et *E. coli* ATCC 25922) isolées des linges de production de lait cru avant et après pasteurisation. Les souches ont été caractérisées morphologiquement et génétiquement (RAPD-PCR, ARDRA, séquençage 16S), puis leur capacité de formation de biofilm a été évaluée in vitro sur microplaques et surfaces d'acier inoxydable. L'effet de la température (20, 30, 40 °C) et du temps d'incubation (2, 4, 6 et 24 h) sur la production de biofilm a été examiné par la méthode de coloration au cristal violet. L'effet du conditionnement des surfaces en acier inoxydables par le lait entier UHT sur la formation de biofilm par les mêmes souches a également été évalué.

Les résultats ont montré que la formation de biofilm varie selon la souche, la température et la durée d'incubation. La souche *E. coli* 82 a présenté la plus forte capacité de production, avec une densité optique maximale à 30 °C après 24 h. La présence d'un film de conditionnement sur acier inoxydable a également favorisé l'adhésion bactérienne. Ces observations soulignent l'importance des conditions environnementales et des facteurs de surface dans la persistance des biofilms d'*E. coli* en industrie agroalimentaire, et mettent en évidence la nécessité de stratégies de contrôle efficaces pour limiter les risques de contamination.

