



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE de TLEMCEEN

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



Département de Biologie

*Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à  
l'environnement (LAMAABE)*

## MEMOIRE

Présenté par :

**ZONGO Ramatou Nadia Noëlie**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Biologie, Option : Microbiologie et Contrôle de la Qualité

### Thème

*Evaluation de la capacité de formation de biofilm par des  
souches de Staphylococcus aureus isolées des compotes de  
fruits destinées aux nourrissons*

Soutenu le 30/06/2025

Devant le jury

<b>Présidente :</b>	Mme Bendimerad Nahida	MCB	Université de Tlemcen
<b>Promotrice :</b>	Mme Cherif-Anntar Asmâa	MCA	Université de Tlemcen
<b>Examinatrice :</b>	Mme Bellifa Samia	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2024-2025

## **REMERCIEMENTS**

Nous tenons tout d'abord à rendre Grâce à DIEU pour ses bienfaits dans ma vie, me garder tout au long de cette étape importante de ma vie en me donnant la force et la patience. Ce document qui couronne le parcours de ma formation théorique suivie de quatre (04) mois de stage, n'aurait pu voir le jour sans le concours de personnes ressources et d'institutions expérimentées.

En effet ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences et Techniques Appliquées, ISTA - l'Université de Tlemcen et le Laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement, LAMAABE, Université de Tlemcen. Nous venons donc, par la présente, remercier toutes ces personnes physiques et morales qui, d'une manière ou d'une autre, nous ont soutenu pendant cette période.

Nous remercions les premiers responsables l'Université Abou Bekr BELKAID et de la faculté de Biologie pour avoir mis à notre disposition le plateau technique et les aptitudes nécessaires pour la réalisation de ce travail. Aussi nous tenons à remercier les responsables Approche de Formation et de Recherche Inclusive pour le Développement Intégré (AFRIDI) pour avoir accepté ma candidature et le financement de mes études.

Nous remercions particulièrement **Mme Cherif-Anntar Asmâa** Maitre de Conférences classe A à l'Université de Tlemcen d'avoir cru en nous. Malgré ses occupations, accepté mettre à contribution votre expérience pour nous guider et nous conseiller tout au long de ce travail.

Nous remercions la présidente et les membres du jury, **Mme BENDIMERED Nahida** Maitre de Conférences classe B à l'Université de Tlemcen. Merci d'avoir fait l'honneur de présider ce jury et juger notre travail. Vos remarques et vos critiques nous seront d'une grande aide en vue d'améliorer ce travail. **Mme BELLIFA Samia** Maitre de Conférences de classes A.

Merci d'avoir accepté de participer dans ce jury d'examiner et de juger ce travail. Vos remarques et vos critiques nous nous permettront d'améliorer au mieux ce travail examiner ce mémoire.

Nous ne saurons terminer sans remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à faciliter notre travail.

Je remercie ma promotion de classe de Microbiologie Contrôle de Qualité de m'avoir accueilli à vos côtés.

Surtout mes chers amis(ies) : Mahmadane, Camara, Salimata, Dalila, Samantha, Ines, Ingrid je ne pourrais terminer sans adresser ma gratitude envers vous.

### **DEDICASES**

*À ma très chère mère TIAWARA Christine, modèle de force, de sagesse, pilier de ma  
persévérance ;*

*A mes frères et sœurs Alima, Rose, Kader, vos encouragements, vos sourires, et votre amour  
m'ont porté jusqu'ici, je dédie à chacun de vous, avec tout mon cœur ;*

*A mes trois princesses de nièces : Grace, Athalia, Emmanuella je vous aime vous êtes tout  
pour moi ;*

*Et à ma chère tante Sanata BRETON pour son appui et sa bonté envers moi.*

## Table de Matières

INTRODUCTION GENERALE.....	Erreur ! Signet non défini.
<i>PREMIERE PARTIE SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	
<b>CHAPITRE I : Généralité sur les Compotes .....</b>	<b>5</b>
I.1- Définitions.....	5
I.2- Composition Biochimique de la compote .....	5
I.3 Les bienfaits des compotes pour les nourrissons.....	6
I.3- Types de compotes .....	7
I.3.1 Selon la préparation .....	7
I.3.2 Selon le conditionnement.....	7
I.3.2.1 En bocal .....	7
I.3.2.2 En pot plastique .....	7
I.3.2.3 En gourde .....	7
I.4.1 Choix et préparation de la matière première .....	7
I.4.4 Raffinage.....	8
I.4.5 Chauffage .....	8
I.4.6 Dégazage .....	9
I.4.7 Pasteurisation/ Stérilisation .....	9
I.4.8 Conditionnement.....	9
I.5 Microbiologies des Fruits et Légumes .....	10
I.6 Altérations et risques sur les compotes.....	11
I.6.1 Altération microbiologique et hygiénique .....	11
I.6.3 Altération de la qualité physico-chimique .....	12
I.7 Risques sur la santé des nourrissons.....	13
<b>CHAPITRE II : Généralités sur les <i>Staphylococcus aureus</i> .....</b>	<b>14</b>
II.1. Habitats .....	14
II.2 Taxonomie des staphylocoques .....	15
II.3 Caractères Bactériologiques.....	15
II.3.1 Caractères Morphologiquesit.....	16
II.3.2 Caractères culturaux .....	16
II.3.3 Caractères biochimiques.....	16
II.3.3.1 Catalase .....	17

II.3.3.2 Oxydase :.....	17
II.3.3.3 Coagulase .....	17
II.4 Impact des <i>S. aureus</i> dans le domaine alimentaire.....	17
<b>CHAPITRE III : Biofilm des <i>Staphylococcus aureus</i>.....</b>	<b>19</b>
III.1 Définitions .....	19
III.2 Historique.....	19
III.3 Caractéristiques et compositions de biofilm.....	20
III.3.1 Caractéristiques de biofilm .....	20
III.3.2 Compositions de biofilm .....	21
III.4 Biofilm dans l'industrie Alimentaire .....	21
III.5 Mécanisme de formation d'un biofilm de Staphylocoque.....	22
III.5.1 - Conditionnement de la surface .....	23
III.5.2 Transport des bactéries vers le support .....	23
III.5.3 L'adhésion . .....	23
III.5.4 La croissance et la maturation du biofilm .....	24
III.5.6 La dispersion/ détachement du biofilm .....	25
III.6.1 Caractéristiques de la cellule .....	26
III.6.2 Caractéristiques du support ou surface .....	26
III.6.3 Caractéristiques du milieu .....	27
<b>DEUXIEME PARTIE :MATERIEL ET METHODES</b>	
<b>CHAPITRE I : Isolement et identification des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .....</b>	<b>30</b>
I.1 Echantillonnage .....	30
I.2 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	30
I.3 Ensemencement sur le milieu Baird Parker et Chapman .....	31
I.3.1 Ensemencement sur le milieu Baird Parker .....	31
I.3.2 Ensemencement sur la gélose Chapman .....	32
I.4 Identification phénotypique par la coloration de Gram .....	32
I.5 Identification Biochimique.....	33
I.5.1 Test de Catalase .....	33
I.5.2 Test d'Oxydase .....	33
I.5.3 Test de Coagulase .....	33
I.5.4 Ensemencement sur la Gélose au Sang frais .....	34
I.6 Conservation des souches.....	34
I.6.2 Conservation à long terme .....	35

<b>Chapitre II : Evaluation de la capacité de formation de biofilm par <i>S. aureus</i></b> .....	36
II.1 Préparation de la suspension Bactérienne .....	36
II.2 Evaluation de la capacite de formation de biofilm dur microplaques de titration a 96 puits.....	36
II.2.1 Techniques . .....	36
II.2.2 Quantification .....	36
II.3 Evaluation de capacité de formation de biofilm sur le verre .....	37
II.4 Evaluation phénotype de la formation du biofilm sur le milieu Rouge Congo .....	38
<b>TROISIEME PARTIE :RESULTATS DISCUSSION</b>	
<b>CHAPITRE 1 : Isolement et Identification des <i>S. aureus</i></b> .....	41
I.1 Isolement et Identification macroscopique de <i>S. aureus</i> .....	41
I.1.1 Aspect sur le milieu Baird Parker .....	41
I.1.2 Aspect sur la gélose Chapman .....	42
I.2 Identification phénotypique par la coloration de Gram.....	42
I.3 Identification biochimique.....	43
I.3.1 Test de Catalase .....	43
I.3.2 Test Oxydase .....	43
I.3.3 Test de Coagulase .....	44
I.3.4 Test d'hémolyse .....	44
<b>Chapitre 2 : Evaluation de la capacité de formation de biofilm par <i>S. aureus</i></b> .....	45
II.1 Evaluation de formation de biofilm sur les Microplaques à 96 puits en PVC.....	45
II.3 Evaluation de la formation de biofilm sur le Rouge congo .....	48
<b>DISCUSSION</b> .....	50
<b>CONCLUSION GENERALE</b> .....	51
<b>Références bibliographiques</b> .....	51

## Liste de figures

<b>Figure 1:</b> Les Etapes De Fabrication Des Compotes .....	10
<b>Figure 2:</b> Les Differentes Etapes De La Formation D'un Biofilm .....	22
<b>Figure 3:</b> Les Echantillons De Compotes.....	30
<b>Figure 4:</b> La Gelose Nutritive Inclinee .....	35
<b>Figure 5:</b> Processus De Conservation A Long Terme .....	35
<b>Figure 6:</b> Techniques De Formation De Biofilm Sur Les Microplaques .....	37
<b>Figure 7:</b> Techniques De Formation De Biofilm Sur La Lame En Verre.....	38
<b>Figure 8:</b> Aspect Des Colonies Noires Sur La Gelose Baird Parker (Photo Personnelle).....	41
<b>Figure 9:</b> Aspect Des Colonies Sur La Gelose Chapman.....	42
<b>Figure 10:</b> Aspect Phenotype De <i>S. aureus</i> Au Microscope Optique .....	43
<b>Figure 11:</b> Resultat Du Test Catalase .....	43
<b>Figure 12:</b> Resultat Du Test Oxydase.....	44
<b>Figure 13:</b> Resultat Du Test Coagulase .....	44
<b>Figure 14:</b> Resultat Du Test D'hémolyse .....	44
<b>Figure 15:</b> Evolution De Formation De Biofilm Sur La Microplaque.....	45
<b>Figure 16:</b> Evolution Croissante De <i>Staphylococcus aureus</i> Sur Les Microplaques De Titration A 96-Puits En Pvc Par La Technique De Cristal Violet (Echantillon 1).....	46
<b>Figure 17:</b> Evolution Croissante De <i>Staphylococcus aureus</i> Sur Les Microplaques De Titration A 96-Puits En Pvc Par La Technique De Cristal Violet (Echantillon 2).....	47
<b>Figure 18:</b> Evolution Croissante De <i>Staphylococcus aureus</i> Sur Les Microplaques De Titration A 96-Puits En Pvc Par La Technique De Cristal Violet (Echantillon 3).....	47
<b>Figure 19:</b> Formation De Biofilm De <i>Staphylococcus aureus</i> Sur Les Verres.....	48
<b>Figure 20:</b> Resultat Phenotypique Sur Le Rouge Congo .....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Composition Biochimique D'une Compote De Fruits Divers .....	6
<b>Tableau 2:</b> Nombre De Staphylococcus Spp Denombre Dans Chaque Echantillon .....	42
<b>Tableau 3:</b> Evaluation De La Capacite De Formation De Biofilm Par Les Souches Etudiees	49

## Sigle et abréviation

- **μl** : Microlitre.
- **BHIB** : Bouillon Cœur-cerveille agar.
- **BN** : Bouillon nutritif.
- **CaCl<sub>2</sub>** : Chlorure de calcium.
- **DO** : Densité optique.
- **H** : Heure.
- **K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : Hydrogénophosphate de potassium.
- **KCl** : Chlorure de potassium.
- **Min** : Minute.
- **ml** : Millilitre.
- **Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : Hydrogénophosphate de sodium.
- **NaCl** : Chlorure de sodium.
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- **Nm** : Nanomètre.
- **PBS** : Phosphate buffer saline.
- **Trs** : Tours.

## RESUME

L'alimentation du nourrisson constitue une étape cruciale pour assurer une croissance saine et un développement optimal. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande un allaitement maternel exclusif pendant les six premiers mois, suivi d'une diversification alimentaire progressive. Parmi les aliments introduits durant la période de sevrage (6 à 24 mois), les compotes de fruits occupent une place importante. Toutefois, ces produits peuvent être exposés à une contamination microbiologique, notamment par *Staphylococcus aureus*, une bactérie pathogène capable de produire des toxines et de former des biofilms. Les biofilms représentent un enjeu sanitaire majeur dans l'industrie agroalimentaire, car ils favorisent la persistance des microorganismes, leur résistance aux traitements de désinfection, et peuvent contaminer les produits finis. Ce mémoire a pour objectif d'isoler et d'identifier les souches de *S. aureus* à partir de compotes de fruits destinées aux nourrissons, et d'étudier leur capacité de formation de biofilms par deux méthodes : une approche qualitative (test au Rouge Congo) et une approche quantitative (coloration au cristal violet sur verre et microplaques en PVC). Les résultats ont montré que les échantillons de compotes présentaient une forte présence de Staphylococcus où l'échantillon 1 était le plus chargé avec une valeur de  $14,363.10^3$  UFC/ml, l'échantillon 3 avec  $13,045.10^3$  UFC/ml et l'échantillon 2 avec une valeur inférieure  $7,424.10^3$  UFC/ml.

Aussi, les tests biochimiques attestaient qu'ils s'agissaient bel et bien de *S. aureus* qui était responsable de cette contamination. En ce qui concerne la capacité de formation de biofilm sur les microplaques à 96 puits, 8/9 souches présentaient une faible formation de biofilm et 1/9 était non formatrice à une échelle de temps différente. Dans le cas des lames en verre, 1/3 était non formatrice et 2/3 faiblement formatrices. Et le dernier paramètre qui consistait à l'ensemencement sur le rouge congo, 7/9 souches ont formé des slime, 1/9 présentait un début de formation de slime et 1/9 était non formatrice de slime. Ces résultats vont constituer une base pour détection de la contamination des produits au sein des différentes industrie.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus*, compotes, biofilm, industrie alimentaire

## ABSTRACT

Infant feeding is a crucial stage in ensuring healthy growth and optimal development. The World Health Organization (WHO) recommends exclusive breastfeeding for the first six months, followed by gradual food diversification. Among the foods introduced during the weaning period (6 to 24 months), fruit compotes play an important role. However, these products can be exposed to microbiological contamination, particularly by *Staphylococcus aureus*, a pathogenic bacterium capable of producing toxins and forming biofilms. Biofilms represent a major health issue in the agri-food industry, as they encourage the persistence of microorganisms, their resistance to disinfection treatments, and can contaminate finished products. The aim of this dissertation was to isolate and identify *S. aureus* strains from fruit compotes intended for infants, and to study their capacity to form biofilms using two methods: a qualitative approach (Congo Red test) and a quantitative approach (crystal violet staining on glass and PVC microplates). The results showed that the compote samples were highly contaminated with *Staphylococcus*, with sample 3 being the most contaminated at  $13,045.10^3$  CFU/ml, sample 1 at  $14,363.10^3$  CFU/ml and sample 2 at  $7,424.10^3$  CFU/ml. Biochemical tests also confirmed that it was indeed *S. aureus* that was responsible for this contamination. In terms of biofilm-forming capacity on 96-well microplates, 8/9 strains were weakly biofilm-forming and 1/9 were non-forming on a different time scale. In the case of glass slides, 1/3 were non-forming and 2/3 weakly forming. And the last parameter, which consisted of seeding on red congo, 8/9 strains formed slime, 1/9 showed the beginnings of slime formation and 1/9 was non-slime-forming. These results will provide a basis for detecting product contamination within various industries.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, compotes, biofilm, food industry

عتبر تغذية الرضع مرحلة حاسمة في ضمان النمو الصحي والتطور الأمثل. وتوصي منظمة الصحة العالمية (WHO) بالرضاعة الطبيعية الحصرية خلال الأشهر الستة الأولى، يليها التنويع التدريجي للأغذية. من بين الأطعمة التي يتم تقديمها خلال فترة الفطام) من 6 إلى 24 شهرًا، تلعب كومبوت الفاكهة دورًا مهمًا. ومع ذلك، يمكن أن تتعرض هذه المنتجات للتلوث الميكروبيولوجي، خاصةً من قبل المكورات العنقودية الذهبية، وهي بكتيريا مسببة للأمراض قادرة على إنتاج السموم وتشكيل الأغشية الحيوية. وتمثل الأغشية الحيوية الرقيقة مشكلة صحية كبيرة في صناعة الأغذية الزراعية، لأنها تشجع على استمرار الكائنات الحية الدقيقة ومقاومتها لعلاجات التطهير، ويمكن أن تلوث المنتجات النهائية. تهدف هذه الأطروحة إلى عزل وتحديد سلالات بكتيريا *S. aureus* من كومبوت الفاكهة المخصص للرضع، ودراسة قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية باستخدام طريقتين: نهج نوعي (اختبار الكونغو الأحمر) ونهج كمي (تطبخ الكريستال البنفسجي على قوالب زجاجية وبلاستيكية دقيقة).

وأظهرت النتائج أن عينات الكومبوت احتوت على مستوى عالٍ من المكورات العنقودية، حيث كانت العينة 3 تحتوي على أعلى مستوى عند  $13,045.10^3$  وحدة من البكتيريا العنقودية/مليتر، والعينة 1 عند  $14,363.10^3$  وحدة من البكتيريا العنقودية/مليتر، والعينة 2 عند  $7,424.10^3$  وحدة من البكتيريا العنقودية/مليتر. كما أكدت الاختبارات البيوكيميائية الحيوية أن المكورات العنقودية الذهبية كانت مسؤولة بالفعل عن التلوث. فيما يتعلق بالقدرة على تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة على قوالب ميكروفيلمية 96 بئر، أظهرت 9/9 سلالات تكوين القليل من الأغشية الحيوية الرقيقة و 1/9 كانت غير متكونة على نطاق زمني مختلف. وفي حالة الشرائح الزجاجية، كانت 1/3 سلالات غير متشكلة و 2/3 كانت ضعيفة التكوين. وفي المتغير الأخير، والذي تمثل في البذر على الكونغو الأحمر، شكلت 7/9 سلالات سلايم و 1/9 أظهرت بدايات تشكيل السلايم و 1/9 كانت غير مشكلة للسلايم. ستوفر هذه النتائج أساسًا للكشف عن تلوث المنتج في الصناعات المختلفة.

**الكلمات المفتاحية:** المكورات العنقودية الذهبية، كومبوت، غشاء حيوي، صناعة الأغذية



***INTRODUCTION  
GENERALE***

L'alimentation du nourrisson est essentielle pour assurer une croissance harmonieuse et un développement optimal. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande un allaitement exclusif, suivi d'une diversification alimentaire progressive. Pendant les premiers six mois, le lait maternel seul permet de couvrir les besoins nutritionnels des nourrissons. Mais au-delà, les enfants ont besoin d'autres sources alimentaires afin que le bon développement soit assuré. Il est donc nécessaire de donner aux nourrissons des aliments complémentaires au lait maternel. Parmi ces compléments, la farine infantile et les compotes occupent une place importante surtout durant la « période dite de sevrage de 6 à 24 mois sans interruption de l'allaitement (**Briend, 2009**). Mais la question de l'alimentation a toujours été au cœur des préoccupations sociétales, les parents se soucient de la santé de leurs enfants et de leur alimentation. Les aliments sont pour la plupart non-stériles et constituent de bons milieux pour le développement de microorganismes. L'environnement peut également être une source de contamination des aliments. Certains agents pathogènes peuvent survivre pendant de longues périodes dans le sol et l'eau, avant de contaminer des produits alimentaires par des voies très diverses reflétant la variété des écosystèmes qui sont en lien avec notre chaîne de production des aliments (**Fremaux et al., 2008**).

Chez l'homme, les infections dues aux staphylocoques sont liées à leur potentiel de production de différents facteurs de virulence, comme les exfoliatines et la toxine de choc staphylococcique toxique TSST-1 et les entérotoxines. (**Argudin et al., 2010 ; Hennekinne et al., 2010 ; Pesvento et al., 2007**), mais les staphylocoques à coagulase positive (SCP) sont considérés comme les plus pathogènes et sont largement impliqués dans les infections et les toxi-infections alimentaires (**Hennekinne et al., 2010**). La survie dans l'environnement est notamment favorisée pour les formes sporulées ou les bactéries organisées en biofilm. Cette bactérie en plus d'être productrice de toxines, elle possède une autre propriété qui est sa capacité à former des biofilms. Les biofilms microbiens sont à l'origine de plus de 75% de toutes les infections microbiennes observées chez l'homme (**Davies, 2003**), à savoir les infections aiguës, qui sont généralement causées par des cellules planctoniques (**Gordon et Lowy, 2008**). Cette formation de biofilm permet à la bactérie d'échapper aux défenses de l'organisme de l'hôte et de la protéger du traitement antibiotique, rendant les infections par

biofilm particulièrement difficiles à éradiquer (**Bhattacharya et al., 2015 ; Venkatesan et al., 2015**).

La contamination des aliments peut être d'origine humaine, environnementale. Il a été démontré que ces structures sont la source de problèmes de biocontamination dans divers domaines (**Dubois-Brissonnet et al., 2006**), y compris l'industrie agroalimentaire contaminant ainsi les produits alimentaires et générant la biodétérioration des matériaux (**Klinger et al., 2005**). Le contrôle du biofilm est un enjeu majeur dans le secteur industriel. Les biofilms des industries alimentaires sont reconnus être la source de lourds problèmes économiques et sanitaires. Les *S. aureus* étant fréquemment présent sur la peau et les muqueuses de l'homme, ces derniers constituent les deux principaux réservoirs de ce germe (**Le Loir et al., 2003**). La contamination peut aussi provenir de l'environnement (surfaces d'ateliers de fabrication ou des ustensiles mal nettoyés (**Doyle et al., 2012**)). Cette contamination peut être faite par la capacité de cette bactérie à former le biofilm. Les biofilms causent à l'industrie alimentaire des pertes annuelles de plusieurs millions de dollars (**Brook et Flint, 2008**). Leur formation sur les surfaces en contact avec les aliments est quasi inévitable et est favorisée par les conditions environnementales dans les établissements de transformation des aliments. Les biofilms des industries alimentaires sont à l'origine de problèmes qui affectent la qualité hygiénique et sanitaire des produits transformés ainsi que celle des matériaux. Les bactéries du biofilm se détachent et peuvent se retrouver dans le produit fini et affecter ainsi sa qualité hygiénique et sanitaire (**Perez-Rodriguez et al., 2008**). D'autre part, le développement de biofilm peut aussi induire la corrosion des surfaces métalliques alimentaires et réduire l'efficacité des appareils et diminuer de l'efficacité des procédures de nettoyage/ désinfection (**Scheffer, 2009 ; Langsrud et al., 2003**). Leur élimination requiert des traitements sévères avec de puissants oxydants (**Scheffer, 2009**). De plus, le biofilm contribue à un niveau supplémentaire de complexité concernant le problème de la résistance aux antimicrobiens (**Craft et al., 2019**).

L'objectif de la présente étude est d'une part l'isolement et l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* à partir des compotes de fruits destinées aux nourrissons, d'autre part étudier la capacité de ces souches à former le biofilm par une approche qualitative via

la méthode du Rouge Congo et une approche quantitative par la méthode du cristal violet sur le verre et les microplaques de titration a 96 puits en PVC.

Ce mémoire sera scindé en trois parties :

La première partie sera consacrée à une synthèse bibliographique englobant des généralités sur les compotes et les Biofilms de *Staphylococcus aureus* ;

La deuxième partie, une description de la méthodologie envisagée sera donnée ;

La dernière partie comportera la présentation des résultats obtenus et leur discussion ;

Ce travail sera clôturé par une conclusion et des perspectives qui pourront ouvrir de nouveaux axes de recherches.

***PREMIERE PARTIE :***  
***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

**CHAPITRE I : Généralités sur les compotes**

L'introduction des fruits et légumes constitue une étape essentielle dans la diversification alimentaire du nourrisson. Pour favoriser une bonne régulation du transit intestinal, il est recommandé de les cuire, car les crudités, mal lavées, peuvent être source de parasites et risquent d'irriter le côlon fragile du jeune enfant. Il est conseillé de débiter par les légumes, afin d'éviter une accoutumance précoce au goût sucré des fruits. Les compotes mixées, qu'elles soient faites maison ou sous forme de petits pots industriels, peuvent être introduites dans un second temps, à condition d'être sans sucre ajouté (**Bocquet *et al.*, 2003**).

**I.1- Définition**

La compote est un produit obtenu par la cuisson de la partie comestible d'un ou plusieurs fruits, présentés entiers ou en morceaux, tamisés ou non, et peuvent être additionnés de sucre à faible dose. Elle se caractérise par une texture homogène, une absence de concentration excessive et un extrait sec soluble (mesuré au réfractomètre à 20°C) compris entre 24 % minimum et 40 % maximum (**Reynal, 2008**).

Selon le *Codex Alimentarius* (2009), la compote de fruits et légumes est définie comme un produit obtenu à partir des parties comestibles d'une ou plusieurs espèces de fruits, finement divisées ou entièrement tamisées, sans concentration notable, avec ou sans ajout de sucre. Ce produit doit présenter une teneur en matière sèche (MS/MT) comprise entre 24 % et 40 %.

L'introduction des compotes dans l'alimentation du nourrisson intervient lorsque le lait seul ne suffit plus à couvrir ses besoins nutritionnels. Grâce à leur composition biochimique adaptée, les compotes peuvent contribuer au renforcement du système immunitaire du bébé. Comme tout aliment destiné aux enfants, leur formulation doit viser un apport nutritionnel équilibré, répondant aux fonctions essentielles du développement et à la maturation immunitaire du nourrisson.

**I.2- Composition biochimique de la compote**

La composition biochimique d'une compote dépend principalement du type de fruit utilisé et des ingrédients ajoutés, tels que le sucre ou des agents antioxydants. En règle

---

générale, la compote constitue une source intéressante de glucides, de fibres alimentaires, de vitamines (notamment la vitamine C) et de minéraux. Ces apports nutritionnels sont particulièrement favorables lorsque la préparation est réalisée avec peu ou pas de sucre ajouté, et que les fruits sont cuits de manière douce, préservant ainsi leurs qualités nutritionnelles.

La composition biochimique des compotes est présentée dans le **Tableau 1** ci-dessous :

**Tableau 1:** Composition biochimique d'une compote de fruits divers (Ciquel, 2013) :

NUTRIMENTS							
Composants (%)	Eau	Glucide	Protéine	Sucres	Fibres	Lipides	Acide Organique
Valeurs	<b>74,30</b>	<b>24,50</b>	<b>0,28</b>	<b>22,00</b>	<b>0,86</b>	<b>0,40</b>	<b>0,46</b>
ELEMENTS MINERAUX							
Composants	K	Mg	P	Na	Ca	Fe	
Valeurs	<b>147,00</b>	<b>8,10</b>	<b>12,70</b>	<b>1,77</b>	<b>20,10</b>	<b>0,159</b>	
VITAMINES							
Composants	Thiamine (B1)	Niacine (B3)	Acides Pan Tothenique (B5)	Pyridoxine (B6)	Folates Totaux (B9)		
Valeurs	<b>0,01</b>	<b>0,12</b>	<b>0,10</b>	<b>0,10</b>	<b>4,00</b>		

### I.3-Les bienfaits des compotes pour les nourrissons

Les compotes de fruits et légumes apportent une variété de nutriments essentiels qui contribuent au bon développement du nourrisson. Après les légumes, les fruits occupent la deuxième place dans la pyramide alimentaire, et sont indispensables au maintien de la santé. L'un de leurs principaux atouts réside dans leur teneur élevée en eau, pouvant atteindre jusqu'à 95 %, ce qui favorise une bonne hydratation. Elles sont également riches en fibres végétales, qui jouent un rôle essentiel dans la régulation du transit intestinal, souvent variable chez le nourrisson. Les compotes apportent aussi des vitamines (C, B, etc.), des minéraux (potassium, calcium...), des glucides simples (sources d'énergie) enfin, leur richesse en antioxydants et en micronutriments contribue à la prévention de diverses pathologies, telles que l'obésité infantile, la constipation, certains troubles cardiovasculaires et même des affections à long terme comme certains cancers (Gassier *et al.*, 2008).

### **I.3- Types de compotes**

Les compotes peuvent être classées en différentes classes selon leur mode de préparation et leur type d'emballage :

**I.3.1 – Selon leur mode de préparation :** on peut distinguer plusieurs formes de compotes selon leur fabrication :

- Les compotes de fruits cuits contenant encore des morceaux.
- Les compotes obtenues à partir de fruits cuits puis broyés et tamisés, ne contenant donc aucun morceau.

**I.3.2 – Selon leur type d'emballage :** il existe trois types de compotes selon le mode d'emballage :

**I.3.2.1 – Conditionnement en bocal :** ce mode de conditionnement est généralement réservé aux compotes comportant des morceaux de fruits. Les fruits sont broyés, mais l'absence de tamisage permet de conserver des morceaux perceptibles.

**I.3.2.2 – Conditionnement en pot plastique :** les compotes vendues en pots plastiques sont le plus souvent lisses, issues de fruits broyés puis tamisés. Elles ne contiennent pas de morceaux et s'inscrivent dans une logique de produit dessert.

**I.3.2.3 – Conditionnement en gourde :** destinées à être consommées en les aspirant, évoquent une consommation ludique. Elles sont particulièrement conçues pour les enfants, comme le souligne **Cadale (2011)**.

### **I.4-Etapes de fabrication des compotes**

La transformation des compotes comprend un certain nombre d'étapes qui sont schématisées dans la figure 1. Il y'a plusieurs étapes de fabrications des compotes, mais celles-ci sont les principales et importantes techniques :

**I.4.1- Choix et préparation de la matière première :** la variété de fruits et légumes sélectionnée joue un rôle déterminant sur les propriétés finales de la compote. En effet, elle influence notamment la quantité de pulpe, la granulométrie et, par conséquent, les caractéristiques rhéologiques du produit fini. Le stade de maturité du fruit constitue également un facteur clé, car il peut modifier la taille des particules ainsi que les propriétés viscoélastiques de la compote (**Schijvens et al., 1998 ; Rao et al., 1986**). La réduction de la taille des particules observée avec l'augmentation de la maturité s'explique en partie par la

---

dégradation des pectines durant le stockage, ce qui entraîne un affaiblissement de l'adhésion cellulaire et donc une fragmentation plus importante des structures cellulaires. Par ailleurs, cette altération des pectines peut également abaisser la viscosité du sérum en diminuant leur masse moléculaire (Usiak *et al.*, 1995). Enfin, le degré de maturité peut aussi influencer les pertes survenant lors de l'étape de raffinage (McLellan et Noguera, 1986). Avant leur transformation, les fruits subissent généralement un lavage, puis peuvent être pelés et épépinés. Toutefois, la peau et les éléments du cœur du fruit peuvent également être éliminés ultérieurement au cours de l'étape de raffinage.

**I.4.2-Lavage :** la première étape du processus consiste à laver les fruits entiers afin d'éliminer les impuretés présentes à leur surface, telles que les particules de terre ou les résidus organiques. Ce lavage s'effectue généralement dans un tunnel à eau, où les fruits sont débarrassés des éléments indésirables. Une fois nettoyés, les fruits sont soumis à un tri rigoureux visant à écarter ceux qui ne répondent pas aux critères de qualité requis pour la production de purée.

**I.4.3-Pré -broyage :** les fruits sont ensuite broyés à l'aide d'un broyeur à marteaux, qui les réduit en petits morceaux. Cette opération entraîne une perte d'intégrité cellulaire, ce qui, en présence d'oxygène, favorise l'oxydation enzymatique des polyphénols sous l'action du polyphénol oxydase (PPO) (Colin-Henrion, 2008). Pour limiter ces réactions de brunissement enzymatique, responsables de l'altération de la couleur, des agents antioxydants comme l'acide ascorbique, ainsi que de la vapeur, peuvent être ajoutés au mélange (Martinez et Whitaker, 1995).

**I.4.4-Raffinage :** lors de l'étape de raffinage, le mélange est poussé à travers des orifices, ce qui permet d'écraser et de désagréger les morceaux de fruits. Cette opération est réalisée à l'aide d'un appareil appelé épulpeur, équipé de pales internes tournant à grande vitesse. Ces pales projettent la matière contre une grille perforée, dont le diamètre des trous est généralement compris entre 0,5 et 2 à 3 mm détermine la finesse du produit obtenu. Ainsi, plus les orifices sont larges, plus la purée conserve une texture granuleuse ; à l'inverse, des ouvertures plus petites donnent une purée plus lisse. En complément, un extracteur permet de séparer efficacement la pulpe des éléments indésirables comme les peaux et les pépins.

**I.4.5-Chauffage :** le premier traitement thermique, désigné sous le terme de « break » (issu

---

de l'anglais), a pour but de ramollir les structures végétales et de neutraliser les enzymes naturellement présentes qui dégradent les pectines (**Colin-Henrion, 2008**).

Le Hot Break, réalisé à des températures comprises entre 85 et 90 °C, permet d'inhiber les enzymes telles que la pectine-méthylestérase (PME) et la polygalacturonase (PG). Ces enzymes, si elles ne sont pas désactivées, participent à la dégradation des chaînes de pectine. En effet, la PME facilite cette dégradation en déméthylant la pectine, rendant celle-ci plus sensible à l'action de la PG, qui fragmente les segments déméthylés (**Hsu, 2008**). L'inactivation de ces enzymes contribue donc à la conservation de la structure des pectines, ce qui se traduit par une viscosité plus élevée du produit final (**Goodman et al., 2002**). Le Hot Break est généralement appliqué avant le raffinage.

À l'inverse, le Cold Break, opéré à une température inférieure à 70 °C, ne neutralise pas totalement les enzymes pectolytiques. Cela entraîne une dégradation partielle des pectines, ce qui réduit la viscosité et modifie la consistance de la purée. Toutefois, cette méthode préserve mieux la couleur naturelle du produit ainsi que son arôme, en limitant les réactions de Maillard et les altérations thermiques des composés aromatiques (**Gould, 1992**).

Concernant l'enzyme polyphénol oxydase (PPO), responsable du brunissement enzymatique, son inactivation thermique commence à partir de 50 °C (**Martinez et Whitaker, 1995**).

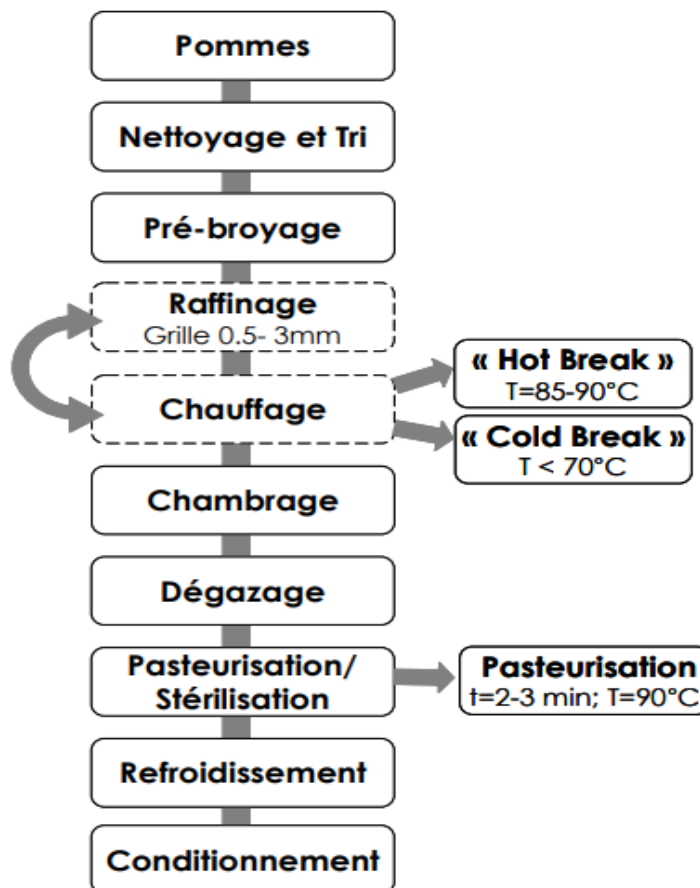
Enfin, l'étape dite de chambrage consiste à maintenir la purée à température constante avant l'opération de dégazage, afin de garantir la stabilité thermique du produit.

**I.4.6-Dégazage :** il s'agit d'une désaération sous vide qui permet d'enlever l'air qui se trouve éventuellement dans le produit.

**I.4.7-Pasteurisation/ Stérilisation :** Le second traitement thermique vise principalement à réduire de manière significative la charge microbienne, afin de garantir la sécurité sanitaire du produit et de permettre sa conservation à température ambiante sur une longue durée. Ce traitement repose sur un équilibre précis entre le temps et la température appliqués. Pour les fruits ayant un pH naturellement inférieur à 4,5, comme c'est souvent le cas, une température de 85 °C suffit généralement à assurer la stabilité microbiologique. Par exemple, la purée de pomme est couramment pasteurisée à environ 90 °C pendant 2 à 3 minutes. Après ce traitement, le produit est rapidement refroidi à environ 40 °C afin de préserver ses qualités organoleptiques (**Colin-Henrion, 2008 ; Brat et Cuq, 2007**).

---

**I.4.8-Conditionnement** : selon le procédé utilisé, la stérilisation peut être effectuée de deux manières. Dans certains cas, le produit est conditionné directement dans son contenant final, tel qu'un pot en verre ou une boîte métallique, puis stérilisé. Dans d'autres situations, le produit est d'abord stérilisé, puis conditionné de manière aseptique dans l'emballage souhaité, comme des poches stériles, des gourdes ou des petits pots, dans des conditions garantissant l'absence de contamination.



**Figure 1:** les étapes de fabrication des compotes

### I.5-Microbiologies des fruits et légumes

La présence de levures et de moisissures telles que *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Rhodotorula* et *Sporobolomyces* dans les denrées alimentaires reflète deux formes principales d'altération de la qualité. La première concerne la qualité commerciale du produit, affectant des caractéristiques telles que l'aspect visuel, la texture, l'arôme ou encore la saveur. La seconde touche à la qualité sanitaire est liée à certaines moisissures potentiellement pathogènes qui peuvent compromettre l'innocuité des

aliments, posant ainsi un risque pour la santé du consommateur. Certaines spores de levures et de moisissures présentent une grande résistance aux traitements physiques et chimiques, y compris la chaleur, la congélation (Nishio *et al.*, 2008). En ce qui concerne les bactéries, plusieurs espèces à Gram négatif ont été identifiées comme contaminants fréquents, notamment *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Xanthomonas spp.*, *Chromobacterium spp.* et *Alcaligenes spp.* (Desbordes, 2003). Les micro-organismes pectinolytiques sont particulièrement surveillés, car la dégradation enzymatique des parois cellulaires végétales est l'un des principaux mécanismes responsables du pourrissement. Les espèces identifiées dans ce groupe incluent *Pseudomonas fluorescens*, *Cytophaga spp.* et *Erwinia spp.* Par ailleurs, parmi les bactéries lactiques fréquemment rencontrées sur les légumes, *Leuconostoc mesenteroides* est l'une des plus représentatives (Nguyen-The *et al.*, 1999).

## **I.6 -Altérations et risques sur les compotes**

L'altération des aliments désigne leur détérioration, les rendant impropres à la consommation. Elle peut être causée par des facteurs physiques, chimiques ou biologiques tout en présentant des risques pour la santé. Elles peuvent être réparties en trois sous-groupes : altération microbiologique et hygiénique, altération de la qualité organoleptique, altération de la qualité physico-chimique.

**I.6.1-Altération microbiologique et hygiénique :** les préparations à base de fruits, telles que les purées et les compotes, présentent généralement un pH inférieur à 4,5 ainsi qu'une teneur élevée en sucres. Ces deux caractéristiques limitent le développement de nombreux micro-organismes pathogènes, notamment *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus* et *Shigella spp.* (Etievant *et al.*, 2011). Cependant, les micro-organismes les plus problématiques pour la qualité microbiologique de ces produits restent les levures et les moisissures. Les levures sont responsables des fermentations indésirables, tandis que les moisissures, se développant à la surface du produit, altèrent son apparence et sa qualité hygiénique. Par ailleurs, d'autres micro-organismes peuvent également représenter un risque en termes de toxi-infections alimentaires (TIA).

---

Ainsi, l'activité fermentaire des levures et le développement des moisissures peuvent entraîner une détérioration à la fois microbiologique et organoleptique des compotes, affectant leur odeur, leur goût et leur aspect visuel (**Roquebert, 1997**). Bien que l'acidité naturelle de certains fruits, comme la pomme, freine le développement de nombreuses flores microbiennes, certaines bactéries pathogènes comme *Salmonella* et *Escherichia coli* peuvent néanmoins y survivre. De plus, certaines étapes de la transformation, comme le lavage ou la découpe, peuvent entraîner une élévation du pH par dilution ou élimination partielle des acides présents à la surface du fruit (**Martin-Belloso, 2003**). Enfin, même si les levures et moisissures naturellement présentes ne présentent pas toujours un risque sanitaire direct, elles peuvent provoquer des défauts sensoriels notables, notamment au niveau de l'odeur et de l'arôme. Les contrôles microbiologiques réalisés sur ce type de produits visent principalement à détecter *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, ainsi que les levures et moisissures (**Seymour et al., 2002 ; Sapers et al., 2000**).

**I.6.2- Altération de la qualité organoleptique :** la texture des compotes de fruits peut être compromise par la formation de poches d'air au sein du produit. Ces bulles sont généralement le résultat d'une fermentation d'origine microbiologique, altérant ainsi la structure homogène et la texture lisse et fluide caractéristique du produit. La couleur, élément visuel essentiel dans l'évaluation des produits à base de fruits, est particulièrement vulnérable. Elle peut évoluer sous l'influence d'activités enzymatiques ou de conditions physiques telles que la température de conservation. La saveur, quant à elle, peut être altérée par la prolifération de levures et de moisissures, responsables de processus fermentaires, ainsi que par d'autres micro-organismes. De plus, des modifications du goût, de l'odeur ou de l'aspect du produit peuvent également résulter de réactions enzymatiques ou chimiques (**Raveaux, 2009**).

**I.6.3-Altération de la qualité physico-chimique :** la qualité physico-chimique des compotes se dégrade rarement de manière significative. Toutefois, il est essentiel de veiller à ce que le pH reste stable et inférieur à 4,5 tout au long de la période de stockage (**Raveaux, 2009**).

**I.7 -Risques sur la santé des nourrissons**

Les micro-organismes représentent un risque majeur pour la santé publique, et la présence d'*Escherichia coli* constitue l'un des indicateurs les plus couramment utilisés pour évaluer une contamination d'origine fécale. Toutefois, la majorité des études montrent des concentrations relativement faibles d'*E. coli*. Certaines recherches ont établi un lien entre la présence de *E. coli* sur des légumes crus et une fréquence accrue de *Salmonella*, tandis que d'autres n'ont pas pu démontrer de corrélation significative entre ces deux agents pathogènes. Bien que les végétaux soient généralement moins contaminés que les viandes, les produits laitiers ou les produits de la mer, plusieurs enquêtes ont révélé la présence d'agents responsables d'intoxications alimentaires sur des fruits et légumes (**Burtin, 2014**).

**CHAPITRE II : Généralités sur *Staphylococcus aureus*****II.1-Habitats**

*Staphylococcus aureus* est une bactérie ubiquitaire et peu exigeante, capable de survivre dans une grande variété d'environnements. Bien qu'on le retrouve chez les animaux et dans divers milieux en tant que saprophyte, son principal réservoir reste l'être humain (**Géraldine, 2009 ; Perez, 2013**). Il s'agit d'un micro-organisme appartenant à la flore commensale de la peau et des muqueuses chez les mammifères et les oiseaux (**Eveillard, 2007**). Chez l'homme, *S. aureus* colonise plusieurs parties du corps. On le retrouve notamment à la surface de la peau, mais il est particulièrement présent dans les zones chaudes et humides telles que le rhinopharynx (nez et gorge), les plis cutanés (aisselles, plis inguinaux), les glandes sudoripares, le cuir chevelu, les mains, la bouche et les dents. Il peut également être détecté, en moindre quantité, dans le tube digestif et la région périnéale (**El-Anzi, 2014 ; Perez, 2013 ; Kloos et al., 1976**). Chez de nombreuses espèces animales, *Staphylococcus aureus* montre une capacité remarquable à coloniser la plupart des mammifères, qu'ils soient terrestres ou marins. Chez l'humain, la transmission se fait principalement par contact direct (manuportage), mais elle peut également se produire par voie aérienne, notamment via les gouttelettes respiratoires émises par des individus atteints d'infections pulmonaires (**Dumitrescu et al., 2008 ; Freeman-Cook, 2006**). La présence de *S. aureus* dans l'environnement est généralement liée à une contamination d'origine humaine ou animale (**Angandza, 2012**). Ce germe peut également survivre sur des surfaces inertes telles que les vêtements, les draps, les poignées de porte ou encore d'autres objets du quotidien (**Freeman-Cook, 2006**). Grâce à ses remarquables capacités d'adaptation et de résistance au stress, *S. aureus* est capable de survivre dans une grande diversité d'habitats, incluant le sol, l'eau douce, l'eau de mer, le sable, la surface des végétaux, et même l'air ambiant sous forme de particules de poussière. On le retrouve également sur les équipements, les meubles et les surfaces des installations (**Touaitia, 2016 ; El-Anzi, 2014**).

La contamination des denrées alimentaires par *S. aureus* constitue un enjeu de santé publique, car elle peut entraîner des toxi-infections alimentaires individuelles ou collectives (TIAC) (**Robert, 2013**). Ces intoxications sont provoquées par l'ingestion d'entérotoxines produites par la bactérie (**Hennekinne, 2009**). Pour que cette contamination devienne

---

problématique, des conditions favorables à la croissance bactérienne doivent être réunies, notamment des températures de conservation inadéquates. Ces situations se produisent le plus souvent lorsqu'il y a rupture de la chaîne du froid ou défaillance du système de réfrigération, ce qui permet à *Staphylococcus aureus* de se multiplier dans les aliments. En outre, certains procédés de transformation impliquant des températures favorables à sa croissance, comme la fabrication de fromages, peuvent également faciliter son développement. De nombreux aliments constituent un milieu de culture favorable à *S. aureus*, en particulier ceux riches en protéines ou en matières grasses. Parmi les produits les plus sensibles figurent le lait et la crème, les pâtisseries à base de crème, le beurre, le jambon, les fromages et produits laitiers, les saucisses, les conserves de viande, la charcuterie, les salades composées, les plats préparés, les sandwiches, ainsi que les légumes et fruits consommés crus (Birembaux, 2017).

## II.2-Taxonomie des staphylocoques

Les membres du genre *Staphylococcus* diffèrent de ceux de *Micrococcus* en étant des anaérobies facultatifs. Les données de phylogénie moléculaire associées à des analyses chimiques ont permis de classer les staphylocoques comme suit (Wattam *et al.*, 2014 ; Witham, 2009) :

Règne	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillaceae
Famille	Staphylococcaceae
Genre	Staphylococcus
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

## II.3-Caractères bactériologiques

En bactériologie, le terme "caractère bactériologique" désigne l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'une bactérie qui permettent de l'identifier et de la différencier des autres. Ces caractères peuvent être morphologiques, biochimiques, et cultureux.

**II.3.1- Caractères Morphologiques :** les staphylocoques sont des bactéries à Gram positif, de forme sphérique (cocci), dont le diamètre varie généralement entre 0,5 et 1,5  $\mu\text{m}$ . Elles sont immobiles, ne forment pas de spores et peuvent se présenter isolément, en paires ou en amas irréguliers rappelant des grappes de raisin (**Rasheed et Hussein, 2021 ; Sato et al., 2019**). *Staphylococcus aureus* est une espèce encapsulée qui forme typiquement des colonies de couleur dorée sur milieu de culture. Il s'agit d'une bactérie aero-anaerobies facultative, capable de produire de la catalase et de survivre dans des environnements à faible activité en eau (**Alioua, 2015 ; Delarras, 2014 ; Rebiahi, 2012**).

**II.3.2- Caractères cultureux :** les staphylocoques sont des micro-organismes peu exigeants sur le plan nutritif, capables de se développer aisément sur des milieux de culture classiques. Ils peuvent croître aussi bien en présence d'oxygène (aérobiose) qu'en son absence (anaérobiose). Leur croissance est possible dans une large gamme de températures, allant de 7 °C à 48 °C, avec une température optimale située autour de 35 °C. Le pH idéal pour leur développement se situe entre 7 et 7,5, bien qu'ils soient capables de se multiplier à des valeurs aussi basses que 4,5. Par ailleurs, ils montrent une forte tolérance au sel, pouvant survivre dans des milieux contenant jusqu'à 15 % de chlorure de sodium (NaCl) (**Okou, 2013 ; Bhatia et Zahoor, 2007**).

**II.3.3- Caractères biochimiques :** les Staphylocoques sont des bactéries aero-anaerobies facultatives, produisent une catalase mais pas d'oxydase. Ainsi, les souches de *S. aureus* sont indole négative, acétoïne et uréase positive, réduisant le tellurite de potassium et les nitrates en nitrites, et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (**Touaitia, 2016**). Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés (glucose, lévulose, saccharose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobiose ainsi que le mannitol.

En milieu liquide, *Staphylococcus aureus* se développe en produisant une turbidité homogène, caractéristique de sa croissance régulière dans l'ensemble du milieu. Sur milieu solide, il forme des colonies lisses, bombées et brillantes, dont la pigmentation varie du jaune pâle au doré, ce qui lui vaut le nom de « staphylocoque doré » (**Okou, 2013**). Lorsqu'il est

cultivé en gélose profonde, sa croissance s'observe sur toute la hauteur du tube, ce qui illustre sa nature aero-anaerobies facultative (Morgene, 2018).

Sur le milieu sélectif de Chapman, enrichi en sel (7,5 %) et en mannitol, *S. aureus* se manifeste sous forme de colonies entourées d'un halo jaune, signe de la fermentation du mannitol (Gandon, 2020). Le milieu de Baird-Parker, quant à lui, contient du tellurite de potassium et du jaune d'œuf. Sur ce milieu, *S. aureus* forme des colonies noires en raison de la réduction du tellurite, entourées d'un halo clair dû à la protéolyse, suivi, après incubation prolongée, d'une opacification liée à l'activité lipasique. Ce milieu est particulièrement utilisé en bactériologie alimentaire (Denis *et al.*, 2007).

**II.3.3.1-Catalase :** comme l'ensemble des espèces du genre *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* est catalase positive. Cette enzyme permet de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et en dioxygène. L'observation de bulles gazeuses lors de l'ajout de peroxyde d'hydrogène constitue une preuve de cette activité enzymatique. Le test à la catalase est couramment utilisé en microbiologie pour distinguer les bactéries à Gram positif, notamment en différenciant les staphylocoques (catalase +) des streptocoques (catalase -) (Collin, 2012).

**II.3.3.2-Oxydase :** l'oxydase est une enzyme qui intervient dans les réactions d'oxydoréduction en utilisant le dioxygène (O<sub>2</sub>) comme accepteur final d'électrons. Toutefois, *Staphylococcus aureus* ne possède pas cette enzyme et est donc classé comme oxydase négative (Denis *et al.*, 2007).

**II.3.3.3-Coagulase :** chez les souches appartenant au genre *Staphylococcus*, la mise en évidence de l'enzyme coagulase est un test recommandé pour identifier l'espèce *Staphylococcus aureus*. En effet, seules les souches pathogènes de cette espèce sont capables d'induire la coagulation du plasma sanguin (Joffin et Leyral, 2001).

## II.4-Impact des *S. aureus* dans le domaine alimentaire

Les toxi-infections alimentaires provoquées par les staphylocoques sont dues à l'ingestion d'entérotoxines produites par *Staphylococcus aureus* à partir d'aliments contaminés, tels que les produits laitiers, les viandes ou encore les compotes. Dans la majorité des cas, la contamination des denrées alimentaires résulte d'une mauvaise manipulation par des individus porteurs sains, ne respectant pas les règles d'hygiène de base. Ce type

---

d'intoxication se manifeste rapidement après ingestion, avec une période d'incubation courte allant de 1 à 6 heures. Les symptômes typiques comprennent des douleurs abdominales, des crampes, des vomissements, des diarrhées, sans apparition de fièvre. Bien que l'évolution soit généralement bénigne et spontanément résolutive, un choc staphylococcique peut survenir dans les cas les plus graves, notamment en cas d'exposition à une dose massive de toxine (**Götz et al., 2006**). De nombreuses études ont confirmé *S. aureus* comme agent responsable de cas sévères de toxi-infections alimentaires, représentant entre 15 % et 30 % des cas selon les données disponibles. La contamination peut survenir à différentes étapes : soit durant la transformation industrielle, soit lors de la préparation domestique. Elle provient généralement de la flore commensale humaine (peau, muqueuses) ou d'infections locales telles que des plaies purulentes, des sinusites ou des angines. La transmission peut être directe, via le contact manuel avec l'aliment, ou indirecte, par des aérosols respiratoires, en particulier en cas d'infections virales des voies respiratoires supérieures (**Sutra et De Buyser, 2005**).

Au-delà des intoxications alimentaires, *S. aureus* est également impliqué dans diverses infections nosocomiales superficielles (cutanéomuqueuses) et systémiques, telles que les endocardites et les septicémies (**Perez, 2013**).

**CHAPITRE III : Biofilm des *Staphylococcus aureus*****III.1-Définitions**

Les biofilms sont des structures complexes constituées de communautés microbiennes englobées dans une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS) qu'elles produisent elles-mêmes. Ces communautés adhèrent à des surfaces variées, qu'elles soient biotiques (comme les dents, le système digestif, la bouche ou les yeux) ou abiotiques (tels que les sols, les sédiments, les minéraux, les surfaces industrielles, les équipements thermiques, les tables et ustensiles de production). Un biofilm peut être formé par une seule espèce microbienne ou par plusieurs espèces en cohabitation. On estime que 20 à 80 % des micro-organismes présents sur Terre vivent sous forme de biofilms (**Yin et al., 2020**).

Les bactéries du genre *Staphylococcus* possèdent une forte capacité à former des biofilms sur une grande variété de surfaces, ce qui joue un rôle important dans leur pouvoir pathogène. À l'heure actuelle, il est admis qu'environ 70 % des infections chroniques sont associées à la formation de biofilms, toutes espèces confondues (**Bergon, 2016**).

Dans le secteur agroalimentaire, la présence de biofilms sur les surfaces de travail représente un enjeu sanitaire majeur, car elle favorise la persistance de bactéries pathogènes malgré les procédures de nettoyage et de désinfection. Cette contamination persistante compromet l'hygiène des installations et peut entraîner des risques pour la sécurité alimentaire (**Bridier et al., 2015**).

**III.2-Historique**

L'existence des biofilms remonte au XVII<sup>e</sup> siècle, lorsque Antonie van Leeuwenhoek, à l'aide du microscope qu'il avait lui-même conçu, observa des micro-organismes sur un échantillon prélevé à partir de la surface de ses propres dents (**Roux et Ghigo, 2006**). Ce fut la première observation empirique d'une communauté microbienne structurée. Ce n'est cependant qu'en 1943 que les premières études scientifiques furent véritablement consacrées à ce phénomène (**Parot, 2007**).

William Costerton a joué un rôle déterminant dans la reconnaissance du concept de biofilm. Il a contribué à le définir, à en défendre l'importance et à le diffuser au sein de la communauté scientifique. La même année, Claude Zobell a proposé l'un des premiers modèles décrivant le développement des biofilms bactériens. Selon lui, les bactéries fixées en

---

biofilm bénéficient d'un meilleur accès aux nutriments que celles vivant sous forme planctonique (Zobell, 1943). Des recherches ultérieures ont confirmé que la formation de biofilms est étroitement liée à la disponibilité des nutriments. En effet, en milieu appauvri, les bactéries adoptent plutôt un mode de vie planctonique, leur permettant de migrer vers des zones plus favorables à leur croissance (Stanley et Lazazzera, 2004). Les biofilms sont généralement constitués de multiples espèces bactériennes. Cette cohabitation dans un espace restreint favorise les interactions, les échanges métaboliques et la mise en place de relations symbiotiques entre micro-organismes aux besoins physiologiques complémentaires (Shapiro, 1998). Enfin, en 1983, Christensen et ses collaborateurs ont mis en évidence que les biofilms peuvent également se former sur des matériaux médicaux, en particulier sur les cathéters, notamment avec *Staphylococcus epidermidis*.

### III.3-Caractéristiques et compositions du biofilm

Un biofilm correspond à une communauté de micro-organismes fixés à une surface et enveloppés dans une matrice extracellulaire protectrice qu'ils produisent eux-mêmes. Cette matrice est constituée essentiellement de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques et d'autres composés organiques. Les biofilms présentent une organisation structurée et complexe, marquée par une forte hétérogénéité, ainsi qu'une résistance accrue aux agents antimicrobiens.

**III.3.1-Caractéristiques du biofilm :** dans leur environnement naturel, les bactéries peuvent exister sous deux formes distinctes : une forme libre, dite planctonique, et une forme fixée, appelée sessile, correspondant à l'état de biofilm. Le passage d'un mode de vie à l'autre repose sur des mécanismes dynamiques et complexes (Clutterbuck, 2007). À l'état planctonique, les micro-organismes sont capables de se multiplier rapidement et de coloniser de nouveaux milieux. Toutefois, lorsqu'ils s'attachent de manière irréversible à une surface, ils adoptent un mode de vie sessile, qui représente la forme dominante chez les bactéries. Une fois fixées entre elles et à l'interface, ces cellules bactériennes forment progressivement une matrice extracellulaire structurée (Klein, 2011 ; Chalvet de Rochemonteix, 2009). Cette transition vers la vie en biofilm entraîne d'importants réajustements dans l'expression génétique et dans l'utilisation des ressources énergétiques, avec des conséquences profondes sur la physiologie et le comportement des bactéries (Romeo, 2008).

---

**III.3.2-Compositions du biofilm :** la fraction bactérienne d'un biofilm ne représente qu'environ 10 à 25 % de sa masse totale, tandis que les 75 à 90 % restants sont constitués majoritairement de la matrice extracellulaire (**Meddour, 2012**). Cette matrice, produite par les micro-organismes eux-mêmes, est composée de substances polymériques extracellulaires (EPS), incluant des protéines (moins de 1 à 2 %, y compris les enzymes), de l'ADN (environ 1 %), des polysaccharides (1 à 2 %) ainsi que de faibles quantités d'ARN (< 1 %) (**Jamal et al., 2015 ; Branger et al., 2007**). L'élément prédominant de cette structure est toutefois l'eau, qui joue un rôle essentiel dans le transport des nutriments à travers la matrice et l'évacuation des déchets issus du métabolisme cellulaire. La matrice peut également contenir des débris organiques provenant des matériaux en contact avec les surfaces colonisées, comme les résidus alimentaires.

#### **III.4- Biofilm dans l'industrie alimentaire**

L'étude des biofilms dans le secteur agroalimentaire s'inscrit principalement dans le champ de la sécurité sanitaire des aliments. Pratiquement toutes les branches de cette industrie, notamment le secteur laitier, sont confrontées à la problématique des biofilms (**Srey et al., 2013**). Leur présence sur les surfaces en contact avec les aliments est presque inévitable, favorisée par les conditions environnementales propres aux installations de transformation. Ces biofilms entraînent d'importantes pertes économiques, estimées à plusieurs millions de dollars chaque année (**Brook et Flint, 2008**). En agroalimentaire, les biofilms représentent un risque significatif, car ils compromettent la qualité hygiénique des produits finis ainsi que celle des matériaux utilisés. Bien qu'ils puissent être composés de bactéries non pathogènes, ces structures offrent un abri idéal aux agents pathogènes, ce qui en fait un danger pour la santé publique. Environ 40 % des toxi-infections alimentaires leur seraient imputables (**Vlkova et al., 2008**). Les bactéries peuvent se détacher du biofilm, contaminer les produits finis et altérer leur innocuité (**Brook et Flint, 2008 ; Pérez-Rodriguez et al., 2008 ; Bagge-Ravn et al., 2003 ; Kusumaningrum et al., 2003**). En plus de leur impact sanitaire, les biofilms peuvent entraîner la corrosion des équipements métalliques et nuire à leur performance, notamment en réduisant le transfert thermique dans les échangeurs de chaleur (**Simões et al., 2010 ; Chmielewski et Frank, 2003**). La littérature

---

scientifique, ancienne comme récente, met en évidence l'importance de maîtriser les contaminations microbiennes liées aux biofilms, et souligne la difficulté de leur élimination (Srey *et al.*, 2013 ; Marchand *et al.*, 2012 ; Van Houdt et Michiels, 2010 ; Meyer, 2003).

Leur résistance aux méthodes classiques de nettoyage et de désinfection constitue un défi majeur. Dans bien des cas, leur éradication nécessite le recours à des agents oxydants puissants et des traitements intensifs (Burfoot *et al.*, 2009 ; Scheffler, 2009 ; Murthy et Venkatesan, 2008 ; Carpentier et Cerf, 1993).

### III.5-Mécanisme de formation d'un biofilm de Staphylocoque

Divers travaux de recherche ont montré que les biofilms se développent selon un processus similaire, quel que soit le type d'environnement colonisé (Haras, 2005). Leur formation suit généralement cinq étapes principales, l'élaboration d'un film conditionnant à la surface, constitué de molécules organiques provenant du milieu, le déplacement des bactéries planctoniques vers cette surface ; l'adhésion des micro-organismes, d'abord réversible, puis irréversible, la multiplication cellulaire et la formation de micro-colonies, entraînant la maturation progressive du biofilm, la dispersion des cellules se détachent de la structure pour coloniser de nouveaux milieux (Percival *et al.*, 2011).

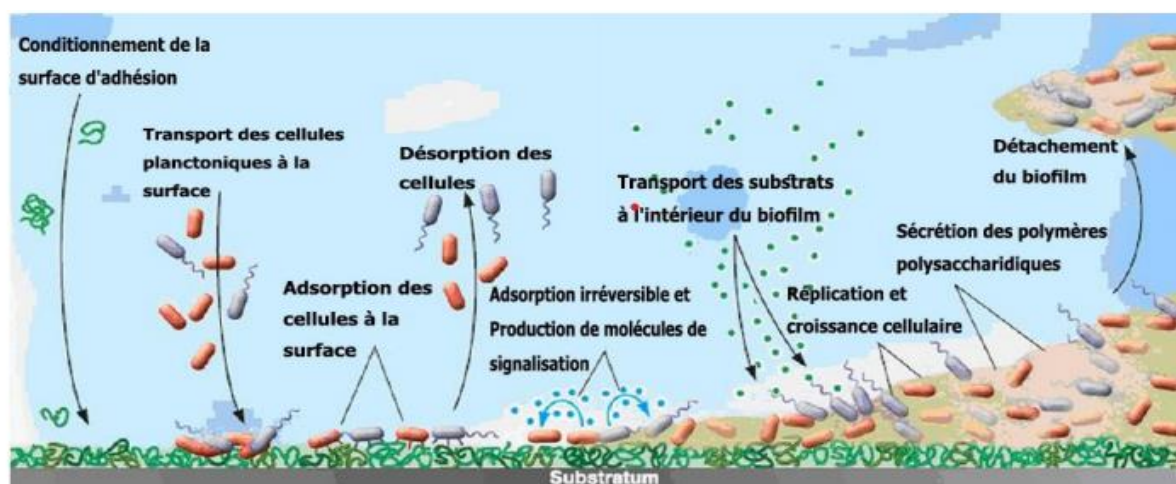


Figure 2: Les différentes étapes de la formation d'un biofilm (Breyers et Ratner, 2004)

**III.5.1-Conditionnement de la surface :** dès qu'une surface est exposée à un environnement aqueux, elle est presque immédiatement recouverte de composés polymériques issus de ce milieu, formant ce qu'on appelle un film de conditionnement (**Dolan, 2002**). Ce dépôt modifie les propriétés physicochimiques de la surface d'origine, telles que la rugosité, la polarité ou encore son caractère hydrophile ou hydrophobe. Ces altérations peuvent soit favoriser, soit freiner l'adhésion bactérienne (**Lorite et al., 2011 ; Stoodley et al., 2002**). Par ailleurs, l'accumulation de ces substances organiques, notamment sur des matériaux industriels, crée un environnement riche en nutriments, ce qui attire les micro-organismes par chimiotactisme et facilite leur fixation (**Garrett et al., 2008 ; Kumar et Anand, 1998**). La composition du film conditionnant dépend de l'environnement dans lequel il se forme, mais il est généralement constitué de polysaccharides, de glycoprotéines et de matières humiques.

**III.5.2-Transport des bactéries vers le support :** pour que les bactéries interagissent avec un support, elles doivent s'en approcher à une distance inférieure à 50 nanomètres, comme le prévoient les modèles théoriques de l'adhésion (**Hori et Matsumoto, 2010 ; Katsikogianni et Missirlis, 2004**). Ce rapprochement est assuré soit par un transport actif, soit par un transport passif. Le transport actif repose sur la mobilité des cellules, dirigée par chimiotactisme, c'est-à-dire en réponse à une concentration élevée de nutriments dans la couche visqueuse proche de la surface. Ce déplacement fait intervenir des structures telles que les flagelles ainsi que des récepteurs spécialisés capables de détecter les variations de concentration (**Houry et al., 2010 ; O'May et Tufenkji, 2007**). En revanche, le transport passif dépend davantage des propriétés physiques du milieu environnant, notamment de sa viscosité, de sa force ionique et des mouvements du fluide dans lequel évoluent les bactéries (**Hori et Matsumoto, 2010**).

**III.5.3-L'adhésion :** l'adhésion bactérienne à un support, qu'il soit vivant ou inerte, est un processus en deux étapes : une phase initiale physicochimique, dite réversible, et une phase spécifique, appelée adhésion irréversible (**Chen et al., 2011 ; Strevett et Chen, 2003**).

Dans un premier temps, les bactéries entrent en interaction avec la surface par des forces de faible intensité, telles que les forces de Van der Waals et les interactions électrostatiques. Ces interactions, qui s'exercent à une distance d'environ 50 nanomètres, sont influencées par les propriétés de la cellule bactérienne (charge, hydrophobicité) ainsi que par

---

celles du matériau (texture, charge, hydrophobie) (Nilsson *et al.*, 2011 ; Ferreira *et al.*, 2010 ; Abdallah *et al.*, 2009). Chez *Staphylococcus aureus*, l'adhésion aux surfaces abiotiques (verre, acier inoxydable, plastique) repose sur des interactions non spécifiques, tandis que l'attachement aux surfaces biologiques implique des protéines de surface spécifiques appelées MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) (Foster *et al.*, 2014). Dans un second temps, lorsque la distance entre la cellule et la surface se réduit à environ 1 à 1,5 nanomètre, l'adhésion devient irréversible (Percival *et al.*, 2011 ; Garrett *et al.*, 2008). Ce stade se caractérise par la production d'exopolymères par les bactéries, qui assurent une fixation stable au support (Kuchma *et al.*, 2005 ; Spiers *et al.*, 2003). Cette fixation est renforcée par des interactions hydrophobes fortes (Branger *et al.*, 2007) et par des structures d'adhésion spécifiques, qui varient selon les espèces bactériennes. Chez les bactéries à Gram positif, des composants comme les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule ou encore le glycocalyx jouent un rôle majeur dans ce processus (Beloin *et al.*, 2005 ; Van Houdt et Michiels, 2005).

**III.5.4-La croissance et la maturation du biofilm :** après l'adhésion irréversible à une surface, les bactéries amorcent une phase de maturation, marquant le passage d'un mode de vie libre (planctonique) à un mode de vie fixé (sessile). Cette étape est essentielle à la structuration du biofilm, car c'est durant cette phase que la production de substances polymériques extracellulaires (EPS) s'intensifie. Ces EPS favorisent les interactions intercellulaires, permettant aux bactéries de s'organiser en structures multicouches tridimensionnelles (Kranjec *et al.*, 2021). Chez les staphylocoques, l'un des composants clés du biofilm est le PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesin), responsable de la cohésion entre les cellules (Mack *et al.*, 1996). Toutefois, des mécanismes alternatifs, reposant sur des protéines de surface, ont également été identifiés. Parmi celles-ci figure la protéine Bap (Biofilm-associated protein), impliquée dans l'accumulation cellulaire. D'autres protéines spécifiques ont été décrites selon les souches, comme les FnBPs (Fibronectin Binding Proteins) dans certaines souches de SARM, ou encore la protéine SdrC chez *S. aureus* (Feuillie *et al.*, 2017 ; Rohde *et al.*, 2005). Dans le cadre d'infections humaines, les staphylocoques peuvent aussi exploiter des protéines de l'hôte pour renforcer leur matrice. Par exemple, grâce à la coagulase, ils détournent la prothrombine humaine afin de convertir

---

le fibrinogène en fibrine, un composant ensuite intégré dans la structure du biofilm (Kobayashi *et al.*, 2015 ; Vanassche *et al.*, 2013). Par ailleurs, des fibres amyloïdes ont été récemment identifiées dans les biofilms staphylococciques matures, suggérant une complexité encore plus grande de cette matrice (Marinelli *et al.*, 2016). Il convient de noter que les stratégies de maturation du biofilm varient selon les souches bactériennes et les conditions environnementales, conduisant à la formation de biofilms de compositions et structures différentes (Zapotoczna *et al.*, 2016).

**III.5.6-La dispersion/ détachement du biofilm** : la dernière phase du cycle de vie du biofilm correspond à la dispersion ou détachement, aussi appelée retour à la phase planctonique. Elle se caractérise par le départ de cellules différenciées du biofilm, qui perdent alors leur phénotype sessile pour redevenir mobiles et libres. Ces cellules, bien qu'issues du biofilm, conservent la capacité de coloniser de nouveaux milieux et d'initier la formation de nouveaux biofilms (Yannick *et al.*, 2014 ; McDougald *et al.*, 2012 ; Donlan, 2002). Le processus de dispersion peut se produire selon deux mécanismes principaux. Le détachement passif résulte de facteurs extérieurs tels que les forces de cisaillement, les perturbations mécaniques ou encore des changements physicochimiques de l'environnement (Jacques *et al.*, 2010 ; Stoodley *et al.*, 2002). Ce type de dispersion favorise la migration bactérienne vers des niches plus favorables (Parot, 2007 ; Haras, 2005). Le détachement actif, en revanche, est un processus finement régulé par des circuits de signalisation. Il est souvent induit par le quorum sensing, un mécanisme de communication cellulaire permettant aux bactéries de détecter la densité cellulaire et d'ajuster l'expression de gènes en conséquence (Karatan et Watnick, 2009 ; Stoodley *et al.*, 2002). Chez *Staphylococcus aureus*, un rôle important dans la dispersion est joué par les modulines solubles dans le phénol (PSM, Phenol-Soluble Modulins), qui agissent comme agents tensioactifs. Ces peptides favorisent le désencrage des cellules du biofilm. Huit modulines ont été identifiées à ce jour : PSM $\alpha$ 1 à PSM $\alpha$ 4, PSM $\beta$ 1, PSM $\beta$ 2 et la  $\delta$ -toxine (Peschel et Otto, 2013 ; Wang *et al.*, 2007). Par ailleurs, les bactéries peuvent produire des enzymes dégradant la matrice pour faciliter leur libération. Ces enzymes incluent des nucléases, telles que nuc1 et nuc2 chez *S. aureus* (Kiedrowski *et al.*, 2014), ainsi que plusieurs protéases extracellulaires identifiées pour leur rôle dans le désagrègement des biofilms staphylococciques (Kranjec *et al.*, 2021 ; Mootz *et al.*, 2013 ; Abraham *et*

---

*al., 2012 ; Boles et al., 2008*). Ainsi, la dispersion représente une étape clé dans la dissémination bactérienne, contribuant à la recolonisation de nouvelles surfaces, mais également à la résurgence d'infections dans un contexte pathologique.

### **III.6 -Facteurs favorisant la formation du biofilm**

La formation des biofilms est un processus multifactoriel influencé par divers éléments. Parmi eux figurent les caractéristiques du support sur lequel les bactéries s'attachent, les conditions hydrodynamiques du milieu (c'est-à-dire les forces exercées par le fluide environnant), les propriétés physicochimiques du milieu ainsi que les caractéristiques propres à la surface des cellules bactériennes (**Donlan, 2002**).

**III.6.1-Caractéristiques de la cellule :** la fixation des cellules bactériennes sur une surface est également favorisée par la production de substances polymériques extracellulaires (EPS), ainsi que par la présence de structures spécialisées telles que les flagelles, les pili, les fimbriae et certaines adhésines non fimbriales, qui facilitent le premier contact physique avec le substrat. Un autre facteur déterminant dans l'adhésion bactérienne est l'hydrophobicité de la surface cellulaire, qui contribue à réduire les forces répulsives entre la cellule et la surface à coloniser. Ce paramètre est étroitement lié aux conditions du milieu, au taux de croissance bactérienne, ainsi qu'aux caractéristiques propres à chaque espèce bactérienne (**Muhammad et al., 2020**).

**III.6.2-Caractéristiques du support ou surface :** les propriétés physicochimiques d'un substrat jouent un rôle déterminant dans l'adhésion bactérienne et la vitesse de formation des biofilms. Plusieurs facteurs sont en jeu, notamment la rugosité, l'hydrophobicité, la charge de surface et la présence éventuelle d'un film de conditionnement. Des recherches ont démontré que plus une surface ou une cellule bactérienne est hydrophobe, plus l'adhésion est facilitée. De même, les irrégularités microscopiques des surfaces abiotiques, en diminuant les forces de cisaillement, offrent une meilleure accroche aux bactéries et augmentent la surface disponible pour l'installation du biofilm. La charge de surface, quant à elle, est un paramètre variable qui dépend du milieu de culture, de l'âge des cellules, du pH, et de la force ionique. Elle peut également varier d'une espèce bactérienne à une autre, influençant ainsi l'efficacité de

---

l'attachement. Enfin, la formation d'un film de conditionnement résulte de l'adsorption de composés organiques (nutriments, protéines, etc.) à la surface des matériaux. Ce film modifie les propriétés physicochimiques de la surface, ce qui peut favoriser ou inhiber l'adhésion bactérienne (Muhammad *et al.*, 2020).

**III.6.3-Caractéristiques du milieu :** la formation ainsi que la dispersion des biofilms reposent sur la mobilisation de structures spécifiques et d'enzymes particulières, dont l'expression est étroitement liée aux conditions environnementales. Parmi les facteurs déterminants figurent les variations du taux d'oxygène, qui peuvent influencer la capacité de certaines bactéries à former des biofilms. La température ainsi que les conditions de carence en nutriments exercent également un stress physiologique sur les micro-organismes, ce qui peut déclencher la mise en place du biofilm. Toutefois, un environnement constamment pauvre en nutriments peut empêcher la maturation complète du biofilm, car le développement de cette structure complexe nécessite un minimum de ressources disponibles (Samrot *et al.*, 2021 ; Bezoui, 2016).

***DEUXIEME PARTIE :***  
***MATERIEL ET METHODES***

---

---

---

**CHAPITRE I : Isolement et identification des souches de *Staphylococcus aureus***

Cette étude a été menée dans le Laboratoire de Microbiologie de l'Institut des Sciences et Techniques Appliquées, ISTA - l'Université de Tlemcen et Laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement, LAMAABE, Université de Tlemcen. Elle a été réalisée durant la période allant de février à Mai 2025.

**I.1 Echantillonnage**

Notre étude a été portée sur trois types d'échantillons de compotes de marques Algériennes différentes commercialisées dans la ville de Tlemcen (figure 3). De compositions et de prix différents. Ils ont été achetés dans différents points de ventes dans la ville de Tlemcen plus précisément, dans la zone d'Imama. Dès leur arrivée au laboratoire, ils ont été conservés à basse température 4°C pour éviter toutes modifications de sa qualité organoleptique et stopper toutes détériorations microbiologiques.



**Figure 3:** les échantillons de compotes. **Echantillon 1 :** Compote de pomme et Banane, Conditionnée en pot en verre ; **Echantillon 2 :** compote d'abricot et de pomme, conditionnée en sachet avec bouchon à vis en plastique multicouches et **Echantillon 3 :** compote de pomme, banane et fraise, conditionnée en pot en plastique

**I.2 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales**

L'isolement et l'identification sont les premières techniques de recherches des *S. aureus* dans un échantillon. Pour réaliser ces étapes, il est nécessaire de réaliser des dilutions décimales. La préparation de la dilution décimale sert à réduire le nombre de microorganisme par unité de volume. La première étape consiste à harmoniser le produit afin d'assurer une

---

répartition uniforme des microorganismes. Les échantillons de compotes sont représentés sous forme de produit semi liquide, son homogénéisation est alors effectuée par agitation manuelle. Préparation des suspensions mères et des dilutions décimales sont toujours effectuées en conditions aseptiques. Leur préparation doit être minutieuse où les dilutions sont effectuées dans des tubes à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile. Après homogénéisation de la compote, on prélève 1ml et on le transfère dans le premier tube à essai correspondant à la dilution  $10^{-1}$  (suspension mère). Ceci a été effectué à l'aide d'une micropipette qui ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes ni avec le diluant. Le tube fut ensuite homogénéisé par agitation au vortex pour obtenir une dilution  $10^{-1}$ . Avec un nouvel embout de la micropipette, a été ajouté de la même manière au tube suivant ( $10^{-2}$ ), 1ml de la dilution précédente ( $10^{-1}$ ), et ainsi de suite en changeant à chaque fois les embouts pour ne pas fausser les dilutions. Ce processus a été suivi jusqu'à la dilution souhaitée ( $10^{-3}$ ). Mais à la fin du dernier 1ml doit être rejeté afin d'équilibrer toutes les quantités des tubes.

### I.3-Ensemencement sur le milieu Baird Parker et Chapman

**I.3.1- Ensemencement sur le milieu Baird Parker :** la gélose BP enrichie avec émulsion de jaune d'œuf, au tellurite de potassium et au pyruvate de sodium est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus* dans les prélèvements biologiques d'origine animale, les produits alimentaires et les eaux. A la surface de la gélose Baird Parker ainsi préparées puis bien solidifiées, déposer 100 µl de la suspension mère a l'aide d'une micropipette et étaler l'inoculum a la surface à l'aide d'un étaleur stérile (pipette râteau). Répéter l'opération avec les autres dilutions ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ). L'incubation est faite à 37°C pendant 24 à 48 heures. Le nombre caractéristique de *S. aureus* est calculé selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{V (n_1 + 0.1n_2) d} \text{ UFC/ml}$$

Où :

$\Sigma C$ : est le nombre des colonies comptées sur une boîte retenue des dilutions effectuées.

$V$  : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

**n1** : est le nombre des boîtes retenues à la première dilution ;

**n2** : est le nombre des boîtes retenues à la seconde dilution ;

**d** : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

**I.3.2- Ensemencement sur la gélose Chapman** : en cas de présence de Staphylocoques dans le milieu de Baird Parker (présence de colonies noires caractéristiques), un ensemencement est effectué sur le milieu Chapman. C'est un milieu classique pour la détection et le dénombrement des staphylocoques. Il a été décrit par Chapman et a été adopté par de nombreuses organisations officielles. Ce milieu profite de la haute tolérance saline des staphylocoques utilise le chlorure de sodium comme agent sélectif. Seuls les staphylocoques et les entérobactéries halophiles sont capables de se développer librement à la concentration de sel employée dans ce milieu, tandis que d'autres bactéries sont inhibées. Il exploite également la corrélation entre la pathogénicité des staphylocoques et leur capacité à fermenter le mannitol. L'ensemencement appliqué pour l'isolement sur Chapman a été fait par stries puis incubé à 37°C pendant 24H.

**I.4- Identification phénotypique par la coloration de Gram** : cette technique permet non seulement d'observer la forme des cellules bactérienne et leur mode de regroupement mais aussi de différencier entre deux grands groupes taxonomiques différents : les bactéries à Gram positives qui retiennent le colorant basique utilisé (cristal-violet) après lavage à l'alcool (la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet) et les bactéries à Gram négatives qui ne le retiennent pas (la paroi riche en lipides laisse passer l'alcool qui décolore le cytoplasme).

**I.4.1-Préparation du frottis bactérien** : étaler une colonie sur une lame microscopique avec une anse de platine et ajouter une goutte d'eau distillée en un film mince et régulier par un mouvement circulaire (étalement de 2 à 3 cm de diamètre). Laisser évaporer à sec soit à l'air libre, soit en tenant la lame bien au-dessus de la flamme, le frottis doit devenir terne mais ne doit ni brunir, ni brûler.

**I.4.2-Coloration du frottis** : Recouvrir le frottis par le cristal violet et laisser agir une minute puis rincer à l'eau. Verser le lugol et le laisser agir pendant une minute pour une bonne fixation et mordantage, puis rincer encore à l'eau. La décoloration est réalisée par lavage des

---

---

lames avec l'alcool éthylique jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis puis rincer à l'eau. La dernière étape est la recoloration qui consiste à verser quelques gouttes de la Fuchsine basique et laisser agir pendant 30 secondes, et rincer la lame à l'eau. Laisser la lame sécher puis ajouter une petite goutte d'huile à immersion et examiner avec un microscope optique à l'objectif à immersion (grossissement x1000).

### I.5-Identification biochimique

Une série de tests biochimiques est utilisée pour identifier les diverses propriétés métaboliques des différentes espèces bactériennes, telle que : le test de catalase, oxydase, coagulase et test d'hémolyse. Pour cela, une suspension bactérienne jeune est préparée sur le bouillon BHIB.

**I.5.1-Test de Catalase :** la catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée en eau et oxygène libre qui se dégage sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. A l'aide d'une anse de platine, ajouter une colonie préalablement prélevée. Observer immédiatement la dégradation.

**Catalase (+) :** Apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène

**Catalase (-) :** Pas de bulles

**I.5.2-Test d'Oxydase :** ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram négatif et positif et permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine. Sur une lame propre et stérile déposer un disque d'oxydase, à partir d'une suspension bactérienne jeune, déposer une goutte de la suspension sur le disque si le disque prend une teinte rose, violette, le germe possède une oxydase : le test alors est positif et si le disque reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase : le test est négatif.

**I.5.3-Test de Coagulase :** dans le genre Staphylococcus existe quelques espèces pathogènes, cette pathogénicité est exercée par la production de certaines toxines et enzymes, parmi

---

lesquelles l'enzyme coagulase qui est produite seulement par l'espèce *Staphylococcus aureus* et qui a la faculté de coaguler le plasma de lapin ou humain. A partir de la culture jeune des souches en bouillon BHIB préalablement préparée, Mélanger, dans un tube à hémolyse contenant 0,5 ml le sérum de lapin avec 0,5 ml de la suspension bactérienne. Incuber à l'étuve à 37°C pendant 4 h puis 24 heures. La présence d'une coagulase se manifeste par la formation d'un coagulum.

**I.5.4-Test d'hémolyse :** ce test mis en évidence sur la gélose au sang. Cette gélose est constituée d'une gélose ajoutée de 5% du sang frais. Elle convient à la culture de certaines bactéries exigeantes, et permet de mettre en évidence le pouvoir hémolytique de certaines bactéries. L'interprétation des résultats dépend de l'aspect du milieu autour des colonies qui lui-même dépend de 2 phénomènes :

- La lyse des hématies par les toxines bactériennes où le milieu devient plus ou moins transparent, soit :
  - Une transparence totale dans le cas d'une hémolyse complète
  - Un léger trouble dans le cas d'une hémolyse partielle
- La digestion plus ou moins complète de l'hémoglobine libérée ou la couleur du milieu dépendra du niveau de digestion de l'hémoglobine :
  - Il retrouve la couleur d'origine de la base nutritive (jaune clair) quand la digestion est complète
  - Il présente une coloration verdâtre lorsque la digestion de l'hémoglobine est incomplète.

Réaliser des stries sur la gélose et incuber à 37C pendant 24H.

## **I.6- Conservation des souches**

**I.6.1- Conservation à court terme :** la gélose nutritive inclinée est une technique de conservation à court terme. Pour cela, préparer des tubes de gélose inclinée en ajoutant 7 ml de gélose nutritive liquéfiée dans chaque tube. Une fois la gélose solidifiée d'une façon inclinée, ensemer une colonie de chaque souche par la technique des stries. Incuber les tubes à 37C pendant 24h pour permettre la croissance des bactéries. Après la période d'incubation, transférer les tubes à 4°C pour une conservation de 20 jours maximums.

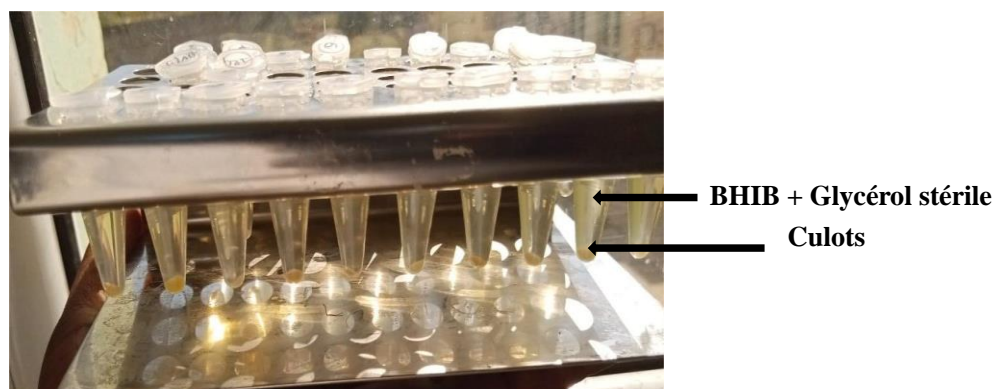
(Figure3)



**Figure 4:** la gélose nutritive inclinée

**I.6.2- Conservation à long terme :** cette technique est réalisée par un stockage sur le glycérol à  $-80^{\circ}\text{C}$  pour maintenir leur fiabilité. Ensemencer 3 ml du bouillon BHIB par chaque souche à conserver et incuber à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 18-24h. Centrifuger 1 ml de chaque culture à 13200 rpm pendant 2mins après l'avoir transféré dans un tube eppendorf. Eliminer le surnageant et ajouter au culot 500 $\mu\text{l}$  de BHIB stérile et 500 $\mu\text{l}$  de glycérol stérile à 50%. Placer les tubes à  $-80^{\circ}\text{C}$  pendant 3 mois (Figure 5).

NB : Le glycérol est un cryoprotecteur permettant d'éviter au maximum les altérations cellulaires dues au refroidissement.



**Figure 5:** Les souches conservées à long terme

---

**Chapitre II : Evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souches de *S. aureus*****II.1- Préparation de la suspension Bactérienne**

Pour évaluer la capacité des souches de *S. aureus* à former le biofilm, un total de 9 de souches isolées et identifiées à partir de 03 échantillons de compotes. Ensemencer 10 ml du bouillon BHIB par les souches à étudier. Incuber les tubes à 37°C pendant 18-24h. Ajuster par la suite la charge bactérienne à une concentration finale d'environ 10<sup>8</sup> UFC/ml par le densitomètre.

**II.2- Evaluation de la capacité de formation de biofilm sur les microplaques de titration à 96 puits**

**II.2.1- La technique :** la formation de biofilm est effectuée sur les microplaques de titration à 96 puits. Pour chaque souche, ensemencer 3 puits par 200 µl du bouillon BHIB à 0,5% de glucose et 10 µl de la suspension bactérienne. Incuber les microplaques à température ambiante pendant 1h, 1h30, 2h, 2h30, 3h et 24h. Les puits du contrôle négatif sont inoculés uniquement avec le bouillon stérile (figure 6).

**II.2.2- Quantification :** pour quantifier le biofilm formé, les étapes suivantes sont appliquées :

Premièrement éliminer les cultures des microplaques, puis rincer trois fois avec le PBS pour éliminer les cellules non adhérentes et laissées sécher à l'air libre pendant 15min. Deuxièmement, après le séchage, les puits sont remplis par 250 µl de Cristal Violet à 1 % et laisser agir 15 min à température ambiante. Ils sont rincés plusieurs fois avec PBS et séchés à l'air libre pendant 15 min. Enfin, un volume de 200 µl d'acide acétique à 33% est ajouté et laissée agir 30 min. Pour finir mesurer la Densité Optique (DO) à 595 nm. Les souches sont classées comme suit (Stepanovicet *al.*, 2000) :

**DO ≤ DO<sub>Témoin</sub> :** Non formatrice de biofilm ;

**DO<sub>Témoin</sub> < DO ≤ 2xDO<sub>Témoin</sub> :** Faiblement formatrice ;

**2xDO<sub>Témoin</sub> < DO ≤ 4xDO<sub>Témoin</sub> :** Capacité modérée ;

**DO > 4xDO<sub>Témoin</sub> :** Fortement formatrice du biofilm

---



**Figure 6:** Techniques de formation de biofilm sur les microplaques, **A** : Remplissage des puits du BHIB à 0,50% et suspension bactérienne, **B** : Après l'incubation à température ambiante pendant 24h et **C** : Remplissage des puits avec le cristal violet

### II.3- Evaluation de capacité de formation de biofilm sur le verre

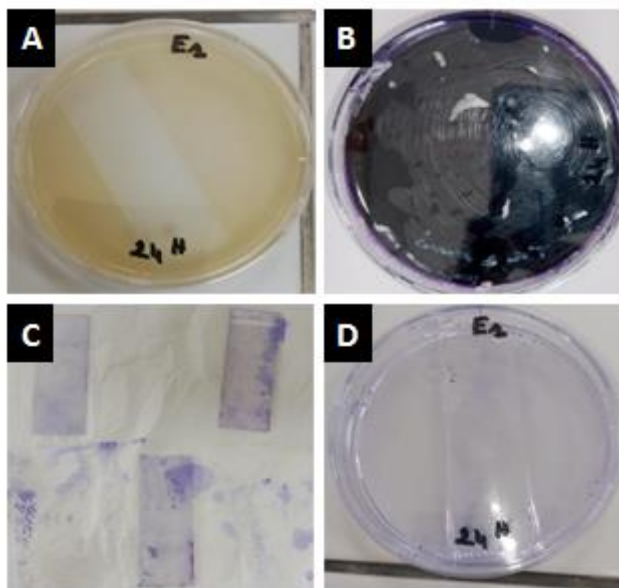
Les lames ont été placées dans des boîtes de pétri stériles. Chaque boîte est remplie par la culture bactérienne à raison de 20ml. Les boîtes sont incubées à température ambiante pendant 30mins, 1h, 1h30, 2h, 2h30, 3h, et 24h. Après chaque période d'incubation, les lames sont rincées 3 fois avec PBS pour éliminer les cellules non adhérentes. Les biofilms formés sont fixés par incubation à 80°C pendant 30 min. Les lames sont immergées dans le Cristal Violet à 1% (P/V) pendant 15 min pour une évaluation quantitative. Ensuite, elles sont rincées à l'eau et séchées à l'air. Les lames sont placées dans l'acide acétique à 30% pendant 30 min avec une vigoureuse agitation (figure 7). Les souches sont classées comme suit (**Stepanovic et al., 2000**) :

$DO \leq DO_{\text{Témoïn}}$  : Non formatrice de biofilm ;

$DO_{\text{Témoïn}} < DO \leq 2 \times DO_{\text{Témoïn}}$  : Faiblement formatrice ;

$2 \times DO_{\text{Témoïn}} < DO \leq 4 \times DO_{\text{Témoïn}}$  : Capacité modérée ;

$DO > 4 \times DO_{\text{Témoïn}}$  : Fortement formatrice du biofilm



**Figure 7:** Techniques de formation de biofilm sur le verre. **A :** Ensemencement de la lame avec la souche au BHIB pendant 24H à température ambiante. **B :** Après 24H d'incubation puis rinçage de la lame au PBS, ensuite incubation à 80°C pendant 30 min, la lame est ensuite immergée dans le Crystal violet pendant 15 min. **C :** Après immersion des lames dans le Crystal violet. **D :** Rinçage de lame à l'acide acétique 30% de concentration, puis laisser pendant 30 min.

#### II.4- Evaluation phénotype de la formation du biofilm sur le milieu Rouge Congo

Cette technique phénotypique consiste à l'ensemencement des souches testées pour leurs capacités à produire un biofilm sur le milieu Rouge Congo (Chaiebet *et al.*, 2005). C'est une méthode indirecte qui permet de distinguer entre les souches productrices de slime de celles qui n'en produisent pas, en se basant sur la composition de la couleur de leurs colonies (Mathur *et al.*, 2006). En effet, la détection de production de slime peut être utilisée comme un bon indicateur pour déterminer le potentiel pathogénique des bactéries. La formation de biofilm a été recherchée sur le milieu Rouge Congo. Ce milieu a été préparé en additionnant 0.2 g de Rouge Congo et 12 g de saccharose, 9.25g de BHIB et 2.5g d'Agar et par la suite ajouter 1L d'eau distillée porter le tout sur une agitation et chauffage pour une dissolution complète. Puis autoclaver à 121°C pendant 15 minutes. Couler le milieu sur des boîtes de pétrie autour du bec bunsen pour un environnement et éviter toute contamination. Le milieu est ensemencé par stries avec les suspensions des souches bactériennes. La lecture a été faite 24h après une incubation à 37°C.

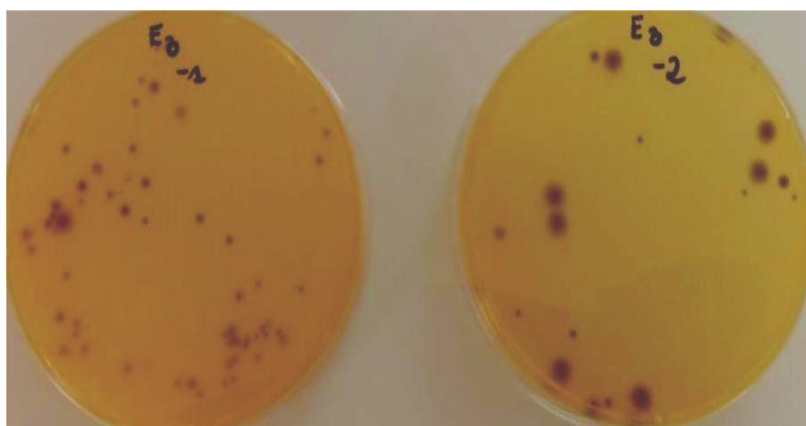


***TROISIEME PARTIE :***  
***RESULTATS DISCUSSION***

---

**CHAPITRE I : Isolement et Identification des souches de *S. aureus*****I.1-Isolement et Identification macroscopique de *S. aureus***

**I.1.1- Aspect sur le milieu Baird Parker :** les résultats obtenus après un ensemencement sur le milieu Baird Parker des trois échantillons de compotes pendant 24 à 48h d'incubation à 37°C, ont montré des colonies de coloration noir brillant, avec un halo transparent, translucide ou opaque (figure 7).



**Figure 8:**Aspect des colonies noires sur la gélose Baird Parker (photo personnelle)

Les agents sélectifs du milieu glycolle, chlorure de lithium et tellurite ont été soigneusement proportionnés pour supprimer la croissance de la plupart des bactéries présentes c'est-à-dire empêchant la croissance d'autres bactéries autres que les *Staphylococcus*. L'émulsion de jaunes d'œufs rend le milieu jaune et opaque et contient des lipoprotéines qui peuvent être hydrolysées par des lipoprotéinases en produisant un halo transparent autour de la colonie indiquant une lipoprotéinases positive. Les *Staphylococcus* réduisent le tellurite, donnant des colonies grises noires brillantes révélant que les souches sont tellurite positive. Cette zone claire autour d'une colonie grise noire typique permet le diagnostic de *Staphylococcus aureus*.

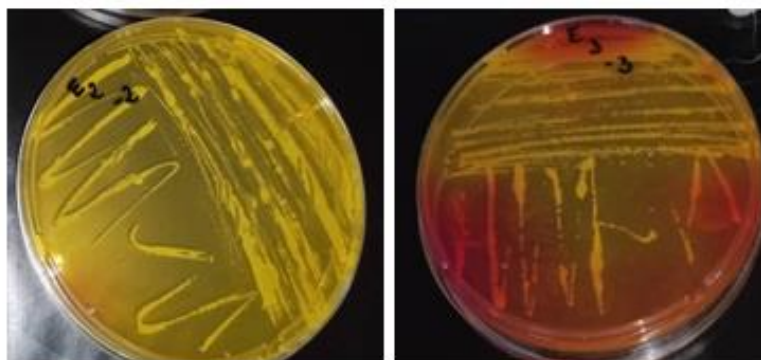
Le nombre de Staphylocoques obtenu après incubation et dénombrement est indiqué sur le tableau 2. Ces résultats montrent que l'échantillon 1 contient une valeur de

14,363.10<sup>3</sup> UFC/ml, que l'échantillon 3 renferme une charge légèrement inférieure de 13,045.10<sup>3</sup> UFC/ml, tandis que l'échantillon 2, une valeur obtenue nettement inférieure de 7,424.10<sup>3</sup> UFC/ml alors.

**Tableau 2:** Nombre de *Staphylococcus* spp dénombré dans chaque échantillon

	Echantillons		
	Ech 1	Ech 2	Ech 3
Le nombre N (UFC/ml)	14,363.10 <sup>3</sup>	7,424.10 <sup>3</sup>	13,045.10 <sup>3</sup>

**I.1.2- Aspect sur la gélose Chapman :** après ensemencement sur la gélose Chapman et une incubation à 37°C pendant 24h, les colonies obtenues sur la surface de la gélose ont entraîné un changement de couleur du rouge au jaune (Figure 9).



**Figure 9:** Aspect des colonies sur la gélose Chapman (Photo personnelle)

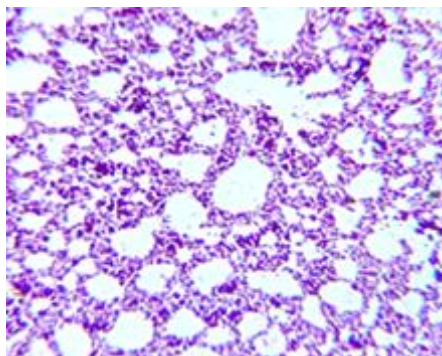
Chapman est l'un des milieux utilisés pour l'identification par ses propriétés riches en chlorure de sodium et mannitol qui pourraient être hydrolysées par les *S. aureus*. Ce changement de couleur est dû à la fermentation du mannitol qui entraîne une accumulation de produits acides, indiqué par l'indicateur rouge phénol virant au jaune. Seules les *Staphylococcus* pathogènes tels que les *S. aureus* possèdent cette propriété de dégradation.

## I.2-Identification phénotypique par la coloration de Gram

Coloration obtenue après la coloration de Gram et une observation au microscope optique, toutes les souches isolées sont sous forme de Cocci regroupées en amas avec une

---

coloration move qui détermine que nos souches sont des bactéries à Gram Positif(Figure 10).



**Figure 10:**Aspect phénotype de *S. aureus* au microscope optique (Photo personnelle)

### I.3-Identification biochimique

Les tests biochimiques réalisés regroupent : la catalase, l'oxydase, la coagulase et le test d'hémolyse

**I.3.1-Test de Catalase :** le test biochimique de catalase est test d'orientation dans l'identification des bactéries. Les résultats figurant dans la figure11 démontrent que toutes les souches testées procèdent une catalase en dégradant le peroxyde d'oxygène en oxygène et en eau produisant ainsi un gaz. Ce test permet de différencier les Staphylocoques des Streptocoques.



**Figure 11:**Résultat positif du test de catalase (Photo personnelle)

**I.3.2- Test d'oxydase :** les résultats obtenus ont montré que toutes les souches testées ne possèdent pas d'oxydase, par un non-changement de couleur du disque oxydase, ce test est alors négatif (Figure12)



**Figure 12:** Résultat négatif du test oxydase (Photo personnelle)

**I.3.3-Test de Coagulase :** les résultats du test coagulase obtenus après avoir mis en contact des souches bactériennes avec le sérum du lapin, ont montré que nos souches ont une capacité de coaguler le sérum indiquant un résultat positif (Figure 13).



**Figure 13:** Résultat positif du test coagulase

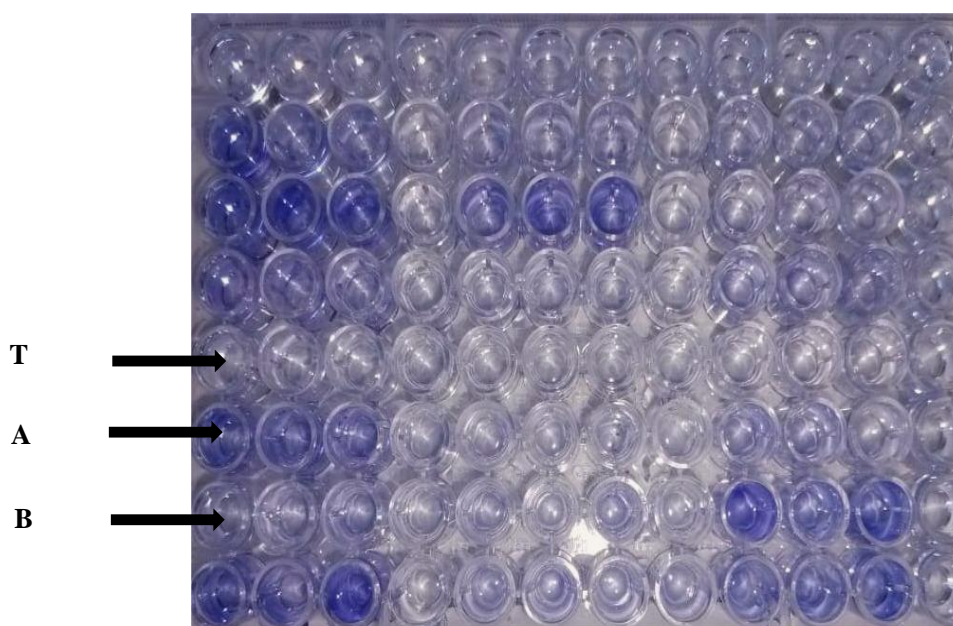
**I.3.4-Test d'hémolyse :** l'ensemencement des souches sur la gélose au sang frais par stries et après incubation de 24h à 37°C, a montré que toutes les souches testées ont une hémolyse. Une propriété douée par les *S. aureus* qui produit des exotoxines appelées hémolysines capables de détruire les globules rouges et l'hémoglobine ce qui se traduit par une zone claire (figure 14).



**Figure 14:** Résultat positif du test d'hémolyse

**Chapitre II : Evaluation de la capacité de formation de biofilm par *S. aureus*****II.1-Evaluation de formation de biofilm sur les microplaques à 96 puits en PVC**

Pour évaluer la capacité de formation de biofilm, un total de 9 souches *Staphylococcus aureus* ont été testées sur les microplaques de titration à 96-puits en PVC. Les résultats obtenus ont démontré une croissance en fonction du Temps. 9/9 souches ont présenté une faible formation de biofilm selon une échelle de temps différente (figure 15).

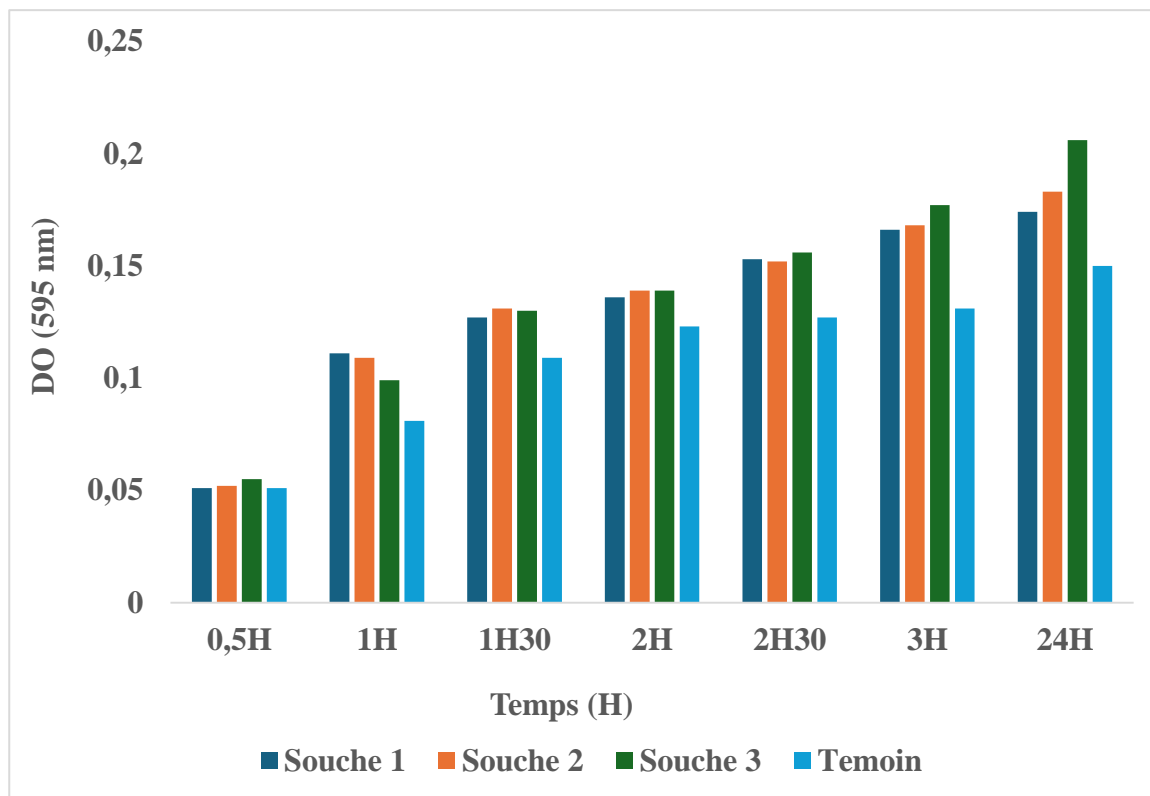


**Figure 15:** Evaluation de la formation de biofilm sur la microplaque de titration après 24H.

**T :** Témoin **A :** Faible formatrice de biofilm

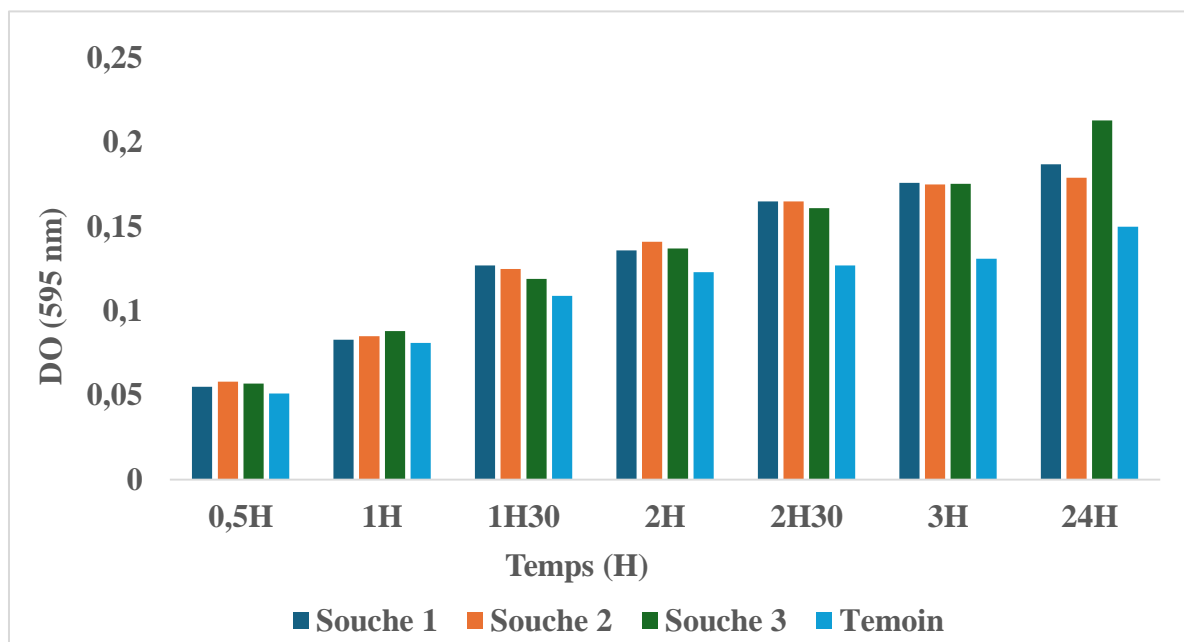
**B :** Non formatrice de biofilm

Trois souches issues de l'échantillon 1, ont montré en présence de glucose sur la microplaque selon l'échelle de temps appliquée : 2/3 sont faiblement formatrices qui ont été observées à partir de ½ Heure jusqu'à la dernière H (24H), 1/3 montrait au début de ½ H une non-formation de biofilm, mais avec le temps, l'observation à changer. Cette souche démontrait de plus en plus de 1H à 24H une évolution de faible formation de Biofilm.



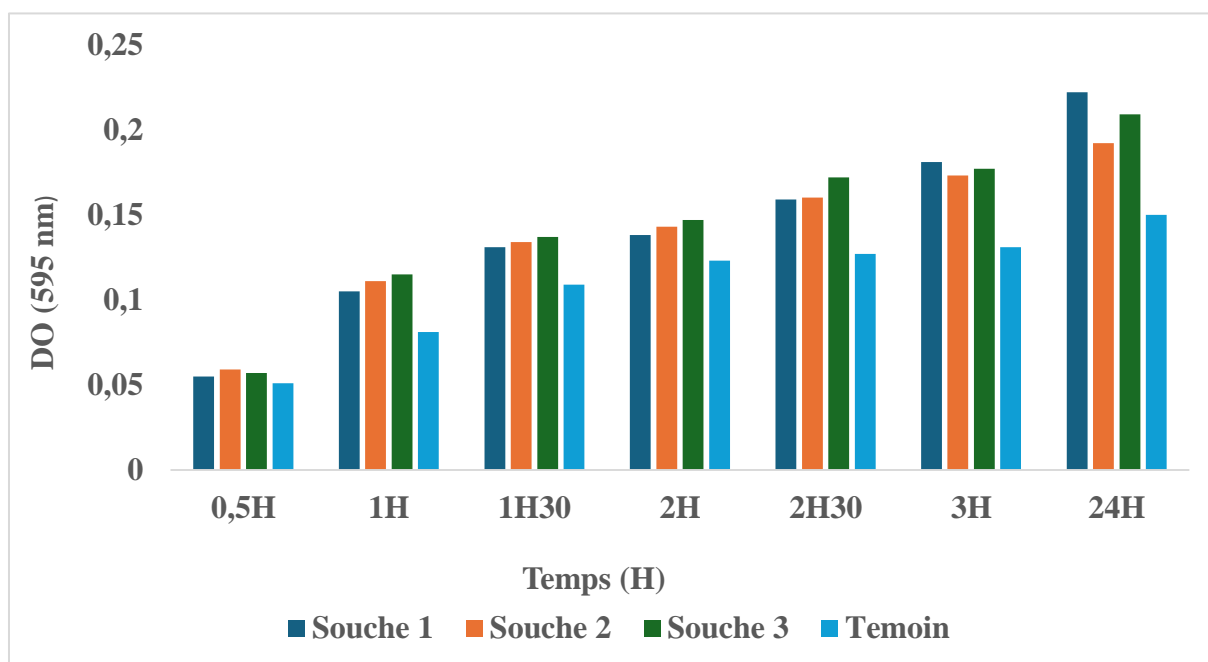
**Figure 16:** Evolution croissante de *Staphylococcus aureus* sur les microplaques de titration à 96-puits en PVC par la technique de cristal violet (Echantillon 1)

Trois souches aussi issues de l'échantillon 2 ont démontré que 3/3 souches sont faiblement formatrices de biofilm sur les microplaques en présence de Glucose de 0,5H à 24H sans présence de modification.



**Figure 17:** Evolution croissante de *Staphylococcus aureus* sur les microplaques de titration à 96-puits en PVC par la technique de cristal violet (Echantillon 2)

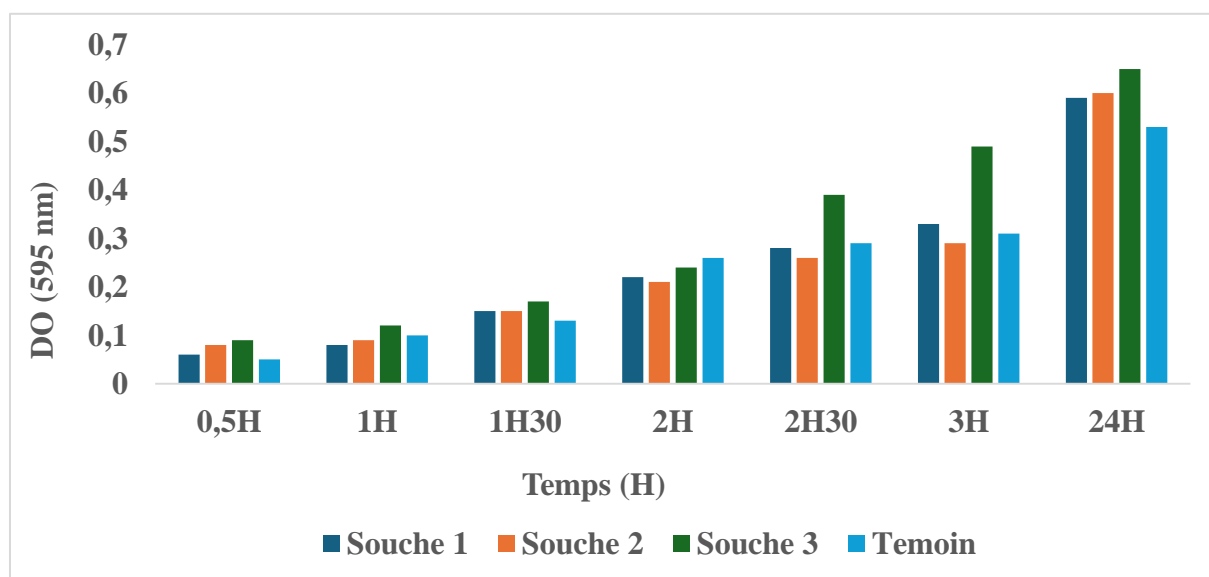
Trois souches aussi issues de l'échantillon 3 ont démontré qu'à partir de 0,5H à 24H 3/3 souches sont faiblement formatrices de biofilm sur les microplaques en présence de Glucose.



**Figure 18:** Evolution croissante de *Staphylococcus aureus* sur les microplaques de titration à 96-puits en PVC par la technique de cristal violet (Echantillon 3)

## II.2- Evaluation de formation de biofilm sur les verres

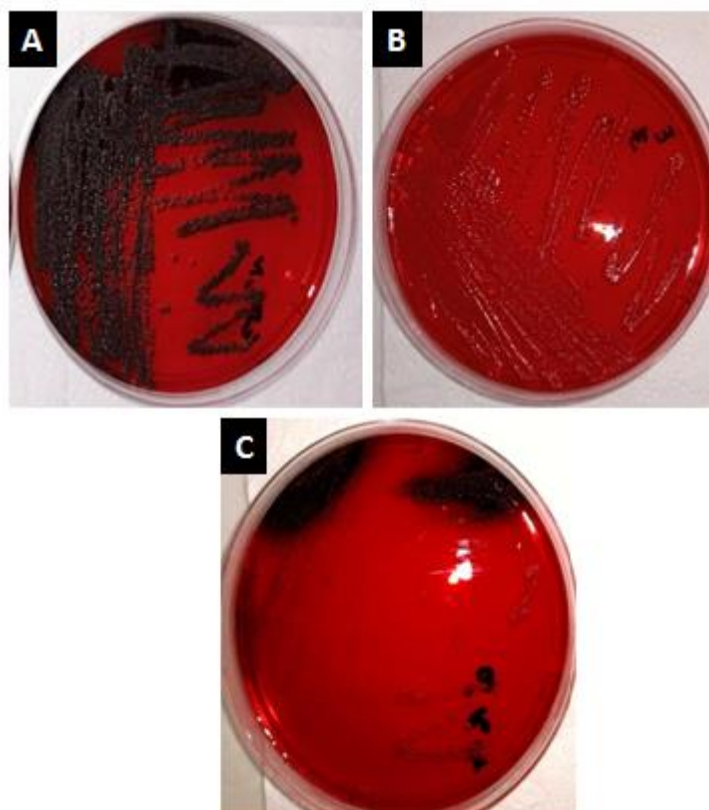
Après inoculation des lames dans les boites par nos différentes souches à une température ambiante pendant une succession de temps suivants, dans le but d'observer l'échelle de formation de biofilm. Mais à cette étude il n'y a pas eu utilisation de BHIB à 0,50% de concentration. Un ensemble de 3 souches (une souche sélectionnée de chaque échantillon) a été soumis à ce paramètre. 2/3 souches qui représentent la sélection de l'échantillon 1 et 3 ont été conclues faiblement formatrices de biofilm tandis que celle de l'échantillon 2 1/2 a été démontrée non formatrice selon l'échelle de temps appliqué (0,5H à 24H) (figure 19).



**Figure 19:** Formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* sur les verres

## II.3- Evaluation de la formation de biofilm sur le Rouge Congo

La formation de biofilm sur la gélose au Rouge Congo permet d'avoir une détection phénotypique des souches. Pour cela, une incubation pendant 24h à une température de 37°C, a été réalisée pour obtenir les résultats illustrés dans la figure 20. Un total de 7/9 ont montré un résultat positif avec une bonne production de slime (figure 20, A), 1 seule souche a montré un caractère modéré (figure 20, C) alors qu'une seule souche n'a pas produit de slime sur la gélose au Rouge Congo en la qualifiant de phénotype négatif (figure 20, B) ;



**Figure 20:** Résultat phénotypique sur le Rouge Congo. **A :** Présences de colonies noires signifiant la production de slime. **B :** Absence de colonies noires, resultat negatif. **C :** Présence de faible quantité de slime signifiant une capacité modérée de formation de biofilm.

Le tableau ci-après regroupe tous les résultats relatifs à l'évaluation de formation de biofilm pour les souches de *Staphylococcus aureus* étudiées.

**Tableau 3:** Evaluation de la capacité de formation de biofilm par les souches étudiées

Techniques	Capacité de formation de biofilm			
	Non formatrice	Faiblement	Fort	Total
Microplaques de titration en PVC	-	09	-	09
Lames en verre	01	02	-	03
RCA	01	01	07	09

---

---

## DISCUSSION

Notre étude a porté sur l'isolement, l'identification des souches de *Staphylococcus aureus* à partir des compotes de fruits pour nourrissons et l'évaluation de capacité de formation de biofilm par les souches identifiées.

Un total de trois marques de compotes différentes sur la base de la composition, du conditionnement et le processus de fabrication. Aussi un aliment destiné à la nutrition des nourrissons compte tenu de ses bienfaits pour leur système huminitaire. Toutes sont commercialisées dans la région de Tlemcen.

L'étape de l'isolement et l'identification de nos échantillons de compotes ont montré la présence de *Staphylococcus aureus*. Les différents tests biochimiques incluant la catalase, l'oxydase, la coagulase et l'hémolyse ont confirmé l'identification des souches. C'est l'un des principaux agents bactériens qui causent des maladies d'origine alimentaire chez l'homme par la production d'entérotoxines (**Loiret et al., 2003**). Nos résultats concordent avec ceux obtenus par des échantillons contaminés par *S. aureus*, dû à une contamination fréquente dans les produits laitiers en Algérie (Bouzaine et al., 2020) 0–10 % de *S. aureus* présent dans les jus et compotes. De même, Benkerroum et al., (2004) sur le lait et produits laitiers en Algérie avec un taux de contamination de 35% de *S. aureus* isolé et identifié présents dans les échantillons. Ces différentes contaminations sont le plus souvent la conséquence de non respect d'hygiène de production et de conservation. Les études menées par Amina et al. (2022) sur les compotes artisanales (non pasteurisées) 87,5 % des échantillons présentaient une présence de *S. aureus*. La présence de ces bactéries dans les échantillons de la mayonnaise analysée est favorisée par son caractère ubiquitaire, soit par la matière première apportée (œuf par exemple), manipulateur (manque d'hygiène), matériaux utilisés...etc. Aussi des résultats similaires sur une étude qui a montré que les Staphylocoque à coagulase positives (*S. aureus*) étaient détectées dans 38% des fromages de chèvre produits à la ferme, cela a été lié à la présence de biofilms sur la surface du matériel et est considérée comme un facteur de virulence (**Jørgensen et al., 2005**). Mais à la différence, nos données sont strictement

---

supérieurs à ceux indiqués. Plusieurs travaux ont montré que les facteurs environnementaux tels que la température, les nutriments et autres composants présent dans le milieu affectent la fixation des microorganismes à la surface de divers matériaux et par conséquent la formation de biofilms (**Iversen *et al.*, 2004 ; Hood et Zottola, 1997**). La présence de biofilm sur les surfaces en contact avec les aliments affecte négativement la qualité et la sécurité des produits alimentaires et peuvent en effet contenir un nombre considérable de microorganismes à la fois d'altération et pathogènes (**Giaouris *et al.*, 2014**). Plusieurs études ont révélé la persistance de certains germes sur les surfaces en contact avec les aliments ainsi que des biofilms causant l'altération de la qualité hygiénique et sont liés à certaines maladies dues à la contamination des produits alimentaires qui peuvent même être responsables de fortes mortalités (**Borucki *et al.*, 2003**). Le temps nécessaire à la formation de biofilm dépend de la fréquence de nettoyage, la désinfection et du temps de contact avec les surfaces nettoyées telle que les machines des industries qui doivent être nettoyées plusieurs fois par jours car les surfaces en contact avec le produit peuvent le contaminer directement : le contact direct du produit ou son passage à travers ces surfaces peut potentiellement le contaminer (**Gibson *et al.*, 1995**).

Il existe plusieurs techniques permettant la détection et la quantification des biofilms. Parmi lesquelles la méthode de microplaque de titration suivie par une coloration au cristal violet (CV), méthode d'évaluation de formation sur les verres et la méthode de la gélose au Rouge Congo semble être moins efficace pour détecter la formation du biofilm *in vitro* (**Mathur *et al.*, 2006**). Notre résultat sur le Rouge Congo a montré un taux élevé de souches qui présentaient du slime. Parmi les souches testées, 7/9 se sont montrées productrices de slime sur la gélose, puis seulement 1/9 souche n'a pas produit de slime et la dernière souche a montré une faible formation de slime. Cela s'expliquerait par la formation de biofilms qui se fait en deux étapes : une adhésion à la surface suivie d'une production des exopolysaccharides (**Ouchar *et al.*, 2013**), et donc la production de slime. Les résultats de **Savadogo *et al.*, (2004)**, **Ouchar *et al.*, (2013)** sur l'isolement et la caractérisation des bactéries productrices des biofilms issues des produits alimentaires, ont présenté une production importante des EPS ce qui conduit à la formation de slime. La production des exopolysaccharides joue un rôle important dans les infections causées par différents

---

microorganismes (**Alcaraz et al., 2003**) et est considérée comme un facteur de virulence important pour certains microorganismes tels que *Staphylococcus aureus*. Les EPS (exopolysaccharides) sont généralement des matériaux polysaccharidiques, qui participent dans la protection des cellules microbiennes. En plus, les micro-organismes qui produisent ces exopolysaccharides sont plus résistants à la dessiccation et aux produits chimiques (**Ophir et al., 1994**). Cependant, ces molécules sont également importantes dans la formation de biofilm sur les surfaces puis qu'elles sont impliquées dans les premières étapes de la formation de biofilms.

La formation de biofilm a été étudiée aussi à l'aide de la technique des microplaques, une méthode quantitative reposant sur des temps d'incubation successifs permettant de suivre la croissance bactérienne en fonction des modifications du milieu. L'objectif de cette expérience était d'évaluer l'évolution de la croissance bactérienne en réponse à la modification du milieu par l'ajout de glucose, utilisé comme source de carbone afin de favoriser la prolifération bactérienne et potentiellement stimuler la formation de biofilm. Les résultats ont montré que, parmi les 09 souches testées, 1/9 souche présentait une absence de formation de biofilm au début de 0,5H mais cette même souche à partir de 1H a montré une évolution faiblement formatrice de biofilm jusqu'à écoulement de temps (24H). 8/9 présentaient depuis le début de l'échelle de temps (0,5H) une faible capacité de formation de biofilm jusqu'à la suspension de temps (24H). Cela pourrait être dû que les deux premières souches semblent présenter une meilleure capacité d'adhésion initiale, ce qui leur permet de commencer la formation du biofilm dès 0,5 h. La troisième souche, en revanche, nécessite plus de temps pour adhérer de manière efficace à la surface, ce qui retarde le début du processus. Et aussi la troisième souche pourrait être entrée dans la phase stationnaire plus lentement, retardant ainsi l'initiation du biofilm c'est à dire en phase de dormance.

En résumé toutes les souches sont faiblement formatrices mais une échelle de temps différente. Ces observations prouvent que la présence de glucose influence la formation de biofilm. En effet, la composition du milieu de culture, et plus particulièrement la concentration en glucose, peut jouer un rôle déterminant dans la capacité des bactéries à produire des biofilms *in vitro*. **Stepanovic et al. (2007)** ont souligné que le glucose constitue un facteur important pouvant moduler ce processus. Des résultats comparables ont été

---

---

rapportés par **Dris et al., (2019)**, qui ont étudié la formation de biofilm par *Staphylococcus aureus* en fonction du temps d'incubation, sur une période allant de 24 à 72 heures. Après 24 heures, 10 % des souches étaient non formatrices, 16 % faiblement productrices et 10 % modérément productrices, aucune ne présentant une forte capacité de formation de biofilm. Après 48 heures, 26 % des souches ne formaient pas de biofilm et 29 % présentaient une faible activité de biofilm. Enfin, l'évaluation réalisée après 72H sur support en acier inoxydable a révélé que 26 % des souches restaient non productrices, tandis que 10 % formaient faiblement des biofilms. Ces résultats indiquent une variabilité de la production de biofilm en fonction du temps d'incubation, avec une prédominance de profils faiblement ou modérément producteurs. Par ailleurs, une étude récente menée par **Cherif-Antar et al. (2024)** sur la capacité de formation de biofilms des souches de *Staphylococcus aureus* isolées du döner kebab et effet de l'acide acétique et de l'acide citrique contre leurs biofilms. L'évaluation, basée sur la densité optique mesurée à 596 nm, a été réalisée sur microplaques et surfaces en acier inoxydable sur une période de 24 à 72 heures. Les résultats ont montré une répartition des souches entre fortes, modérées et faibles productrices de biofilm, avec un pic de formation observé après 24 heures d'incubation, suivi d'une diminution progressive au-delà de cette durée. Cela suggère que la capacité maximale de formation de biofilm est généralement atteinte à un stade précoce de l'incubation, avant de décroître, probablement en raison de la limitation des nutriments ou de l'accumulation de métabolites inhibiteurs.

En plus de la méthode des microplaques, la technique d'évaluation de formation du biofilm sur les verres qui est aussi une méthode quantitative mais à la différence de la première la concentration du glucose n'a été pas modifiée c'est-à-dire il n'y a pas eu ajout intentionnel de glucose. Cette différence n'a pas empêché d'obtenir de brillants résultats, 2/3 souches (souches issues de l'échantillon 1 et 3) sont faiblement formatrices et la souche représentative de l'échantillon 2 est non formatrice de biofilm, remarquées à l'échelle de temps comprise entre ½ H à 24H. Selon **Bakir et Ali (2016)**, cette technique est très utile mais présente un inconvénient qui est la difficulté de visualiser la qualité de biofilm formé, de plus certaines études ont démontré que cette méthode n'est pas très recommandée pour identifier les souches formatrices de biofilm mais elle reste meilleure que la technique de la gélose au rouge Congo (**Hassan et al., 2011 ; Mathur et al., 2006 ; Christensen et al., 1995**).

---

---

En conclusion sur ces deux techniques nous pouvons dire que la technique de microplaques est considérée comme un test standard pour la détection de la formation de biofilm. Cette méthode est rapportée comme étant précise et reproductible pour la détermination de la formation de biofilm chez les staphylocoques (**Kara, 2014**). La formation de biofilms constitue une source de contamination critique dans l'industrie alimentaire. Dans certains cas, ils sont responsables de graves contaminations des produits finis ainsi que des pertes économiques (**Gymoese et Vogel, 2007 ; Bremer et al., 2006**). De nombreuses surfaces non biologiques sont rencontrées dans l'industrie alimentaire, comme le verre, l'acier inoxydable et même le plastique, le caoutchouc, le titane, l'aluminium ou la céramique (**Abdallah et al., 2014**). Ces matériaux sont le plus en contact direct avec les aliments sous forme de matériel de production et matériel de conditionnement. La présence des souches de

*S. aureus* formateurs de biofilm dans nos échantillons de compotes pourraient être due par les environnements plutôt humides qui constituent un environnement propice à la formation et au développement des biofilms. En effet, ces surfaces peuvent être recouvertes de matières organiques comme les protéines des aliments ce qui peut favoriser l'adhésion des bactéries. Les microorganismes sont retrouvés dans les industries dans les différentes étapes de transformation. Ces dernières se forment là où le nettoyage n'est pas approprié, c'est-à-dire, au niveau des courbures ou des jointures, les joints d'étanchéité sont par exemple des surfaces où s'accumulent les saletés constituant un lieu propice au développement de biofilm (**Giaouris et al., 2014 ; Shi et Zhu, 2009**). Le biofilm présent sur des surfaces, soit ouvert ou fermé, va engendrer de graves problèmes de santé. Les bactéries du biofilm sont entourées d'une matrice extracellulaire. Cette structure permet aux bactéries d'être moins sensibles à l'utilisation des biocides. La résistance des cellules des biofilms aux agents antibactériens est bien supérieure à celle des mêmes cellules à l'état flottant (**Giaouris et al., 2014**).

Le biofilm n'est pas seulement connu dans le domaine alimentaire et les *S. aureus* ne sont pas uniquement formateurs de biofilm, mais également dans le domaine médical telles les études menées par **Bellifa en 2014** sur évaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen qui a démontré le diagnostic et la confirmation de la colonisation ou de l'infection liée à tous ces dispositifs médicaux a été réalisé pour l'ensemble des prélèvements. Aussi, l'enquête de prévalence

réalisée par **Hassaine en 2008** est la première enquête sur les infections nosocomiales au CHU de Tlemcen.

***CONCLUSION  
GENERALE***

*Staphylococcus aureus* est une bactérie qui a la capacité de produire des toxines dans les aliments qui sont sources de toxi-infection alimentaire (TIA), de coloniser les muqueuses humaines provoquant ainsi des problèmes sanitaires importants. Sa propriété à coaguler le sérum fait d'elle la plus pathogène de toute la famille Staphylococcaceae. L'étude menée a permis de confirmer la présence de *Staphylococcus aureus* dans les échantillons de compotes. L'isolement sur milieu sélectif Baird-Parker, complété par des tests biochimiques (catalase, coagulase, hémolyse), a permis une identification fiable de la bactérie. Par ailleurs, l'évaluation de la capacité de formation de biofilm a révélé que plusieurs souches présentaient un potentiel d'adhésion aux surfaces inertes, ce qui constitue un risque majeur pour la sécurité sanitaire des aliments. Les biofilms permettent non seulement une résistance accrue aux agents de nettoyage et de désinfection, mais facilitent également la persistance de *S. aureus* dans les environnements industriels, augmentant ainsi le risque de recontamination post-traitement thermique.

D'après les études faites en Algérie, ainsi que celles rapportées par la littérature, la présence de biofilms a un impact considérable, dans l'industrie agroalimentaire. La source principale de formation de biofilms étant le manque d'hygiène, qui conduit à la présence de multiples germes pathogènes à l'homme tels que *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*. Cependant, ce mode de vie du biofilm est un processus compliqué et reste un vaste sujet à explorer. Pour une meilleure maîtrise de la qualité de des produits infantiles, il faut d'abord maîtriser la contamination initiale en améliorant les conditions de conservation. L'hygiène du matériel de travail et des locaux, l'hygiène du personnel, les méthodes de travail. Pour cela des mesures préventives doivent être appliquées afin d'éviter l'apparition de ces biofilms. Et surtout, il nous faut effectuer des recherches en vue de développer des stratégies pour la prévention et le traitement des infections chez l'homme en tenant compte des caractéristiques du biofilm. Des recherches sont également requises afin de développer des procédures de désinfection permettant d'éliminer les biofilms à la ferme, à toute échelle industrielle (principalement agro-alimentaire), car ces biofilms représentent des réservoirs potentiels d'agents infectieux et une menace de santé publique et voir très pour le cas de nourrissons.

Comme perspectives, il serait intéressant :

- D'approfondir les recherches sur d'autres facteurs influençant la formation de biofilm par *Staphylococcus aureus* ;
- Etudier les moyens de diminuer et/ou éradiquer ces biofilms ;
- Accentuer l'hygiène dans les usines afin de protéger la santé du consommateur,
- Et pourquoi ne pas faire une application des 5 M et la technique HACCP.

---

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

- **Abdallah, F.B., Chaieb, K., Zmantar, T., Kallel, H., Bakhrouf, A. 2009.** Adherence assays and slime production of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 40(2), 394-398.
- **Alcaraz L.E., Satorres S.E., Lucero R.M. and Centrorbi O.N.P. (2003).** Species identification, slime production and oxacillin susceptibility in coagulase-negative staphylococci isolated from nosocomial specimens. *Braz. J. Microbiol.* 34 (1), 45-51.
- **Alioua, M.A. (2015).** Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences. Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie. 223p.
- **Alzamora SM., Cerrutti P., Guerrero S. et Lopez-Malo A., 1995.** Minimally processed fruits by combined methods. In: *Food preservation by moisture control -fundamentals and applications*, Edition Technomic Publishing Co, Lancaster, pp. 463-492.
- **Mehdi, A. (2022).** Évaluation de la qualité microbiologique de compotes artisanales vendues localement à Sétif. Mémoire de Master, Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- **Angandza, G.S. (2012).** Recherche des souches de *Staphylococcus aureus* et *pseudintermedius* résistant à la méricilline dans les muqueuses anale et nasale de chiens consultés dans les cabinets vétérinaires de Dakar (Sénégal). Diplôme d'état. Ecole inter - états des sciences et médecine vétérinaires. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal.104p.
- **Bakker D. P, H. J. Busscher, J. van Zanten, J. de Vries J. W. Klijnstra, H. C. van der Mei. 2004.** Multiple linear regression analysis of bacterial deposition to polyurethane coatings after reconditioning film formation in the marine environment. *Microbiology*, 150: 1779–1784.
- **Bartholin G. 1991.** La transformation des fruits. Dans : Guthmann JF. Et Guilmain G. (Eds), *La conserve appertisée, aspects scientifiques, techniques et économiques*. Edition Lavoisier, Paris, 856p.
- **Bagge-Ravn D, Ng Y; Hjelm M, Christansen JN, Johansen C, Gram L. 2003.** The microbial ecology of processing equipment in different fish industries - analysis of the microflora during processing and following cleaning and disinfection. *Int J Food Microbiol* 87: 239-250.

## Références bibliographiques

---

- **Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaid, Tlemcen.
- Hassaine H. (2008). Écologie bactérienne et lutte contre l'infection nosocomiale. Thèse de Doctorat Université de Tlemcen, Algérie.
- **Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- **Beloin, C., Roux, A., Svanborg, C. 2005.** *Escherichia coli*, biofilms. Current Topics in Microbiology and Immunology. 322, 249-289.
- **Bencimani A. 2006.** Endocardite infectieuse : étiologiques et approche épidémiologique de cas enregistrés en 3 ans à Alger, 302p.
- **Benkerroum, N. et Tamime, A.Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. Food Microbiol. 21: 399–314.
- **Bergon, L. (2016).** *S. capitis*, *S. caprae* et *S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques (thèse de doctorat, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- **Bezoui M. (2016).** Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine (Thèse de Doctorat en pharmacie). Université Mohammed v-rabat.
- **Bhattacharya, M., Wozniak, D.J., Stoodley, P., Hall-Stoodley, L. 2015.** Prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms. Expert Review of Anti-infective Therapy. 13, 1499-1516.
- **Bhatia, A., & Zahoor, S. (2007).** *Staphylococcus aureus* entérotoxines, are view. J Clin Diag Res, 3(1), 188-197.
- **Birembaux, Julie. (2017).** Conseils à l'officine : prévention des infections alimentaires chez les populations à risques. Thèse de doctorat. Université de Lille 2, France. p73.
- **Bocquet A, Bresson J.L, Briend A, Chouraqui J.P. 2003,** Alimentation du nourrisson et de l'enfant en bas âge. Réalisation pratique. Archives de pédiatrie. 10,76-81.
- **Bouziane, T., (2020).** Microbiological quality of commercial fruit juices and compotes in Tunisia. African Journal of Food Science, 14(3), 47–52.

## Références bibliographiques

---

- **Breyers, J.D., Ratner, J.P. 2004.** Bioinspired implant materials befuddle bacteria. *ASM News*. 70, 232-237.
- **Burfoot D., K.E. Middleton and J.T. Holah. 2009.** Removal of biofilms and stubborn soil by pressure washing. *Trends in Food Science & Technology* 20 S45eS47.
- **Bridier, A., Sanchez-Vizueté, P., Guilbaud, M., Piard, J. C., Naitali, M., & Briandet, R. (2015).** Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food microbiology*, 45, 167-178.
- **Boles, B.R., Horswill, A.R. 2008.** agr-Mediated Dispersal of *Staphylococcus aureus* Biofilms. *PLoS Pathog.* 4, e1000052,
- **Branger, A., Richer, M.M., Roustel, S. 2007.** Quelque système microbien : les biofilms. Dans: *Microbiochimie et alimentation*. Educagri éditions, dijon,131-164.
- **Burtin H., (2013/2014).** Sécurité sanitaire des aliments, université de Lorraine ,55p sous la direction de Frédéric BORGES.
- **Briend A. 2009.** L'alimentation de complément : recommandations actuelles. *Revue Générale. Med Trop*; 69: 298-302.
- **Brooks J.D., and S.H. Flint. 2008.** Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. *International journal of food and science technology* vol. 43 (12): 2163-2176.
- **Carpentier, B., A.C.L. Wong, O. Cerf. 1998.** Biofilms on dairy plants surfaces: what's new. *Bulletin of IDF* 329.
- **Chaieb K., Mandouani K., Bakhrouf A. (2005).** Detection of *icaA* and *icaD* loci by Polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needle sin à dialysis unit, *Journal of Hospital Infection*, (61) 225-230.
- **Chalvet de Rochemonte A. (2009).** Les biofilms et la peau. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine de cretiel. Paris.
- **Chen, Y., Busscher, H.J., van der Mei, H.C., Norde, W. 2011.** Statistical analysis of long and short-range forces involved in bacterial adhesion to substratum surfaces as measured using atomic force microscopy. *Applied and Environmental Microbiology Journal*. 77, 5065-70.
- **Ciqual., Composition nutritionnelle des aliments version 2013.** Ciqual.com. CNES,
- **Clutterbuck A.L., Woods E.J. (2007).** Biofilms and their relevance to veterinary medicine.

Vet. Microbiol.;121(1-2), 1-17.

- **Chmielewski R.A.N., and J.F. Frank. 2003.** Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive reviews in food science and food safety* Vol. 2: 23-32.
- **CODEX Alimentarius 296 (2009).** Normes du codex pour les confitures, gelées et marmelade, pp. 2-3.
- **Colin-Henrion M., Mehinagic E., Patron C. et Jourjon F. 2009.** "Instrumental and sensory characterization of industrially processed apple sauces." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89(9): 1508-1518.
- **Craft, K.M., Nguyen, J.M., Berg, L.J., Townsend, S.D. 2019.** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. *76 Medchemcomm.* 10(8), 1231-1241.
- **Davies, D. 2003.** Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2(2), 114-122.
- **Dematos G.2013.** Contribution à la maîtrise du risque lié à *staphylococcus aureus* en filière fermière de fromage de chèvre au lait cru en corse, l'université Claude Bernard – Lyon.
- **Desbordes D. 2003.** Qualité microbiologique des fruits et légumes : flores, altérations, risques sanitaires, prévention. DESS Ingénierie documentaire. Ecole ISARA de Lyon, 45p.
- **Donlan Rodney M. (2002).** Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases Journal.* 8 (9): 881-89.
- **Dubois-Brisson, F., Briand, R., Bellon-Fontaine, M.N. 2006.** Agents chimiques ou naturels : des outils de maîtrise de la contamination microbiologique des surfaces. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, Académie vétérinaire de France, 2006, pp.161.*
- **Dumitrescu, O., Dauwalder, O., Gillet, Y., Vandenesch, F., Etienne, J., Lina, G., & Tristan, A. (2008).** Les infections communautaires à *Staphylococcus aureus* en pédiatrie : émergence des staphylocoques dorés résistants à la méticilline d'origine communautaire. *Revue francophone des laboratoires, 2008(407), 71-80.*
- **Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K., & Stackebrandt, E. (2006).** *The Prokaryotes Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria.* Editorial Springer, 242.
- **El-anzi, O. (2014).** Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées au centre hospitalier ibn Sina de rabat. Thèse de doctorat. Faculté de médecine

et de pharmacie –Rabat. Université Mohammed V – Souissi, Maroc.146p.

- **Etievant A. et Delome X. 2011**, Formulation des préparations de fruits. Dans : Filière de production : produits d'origine végétale, article publié le 10/09/2011 sur Techniques de l'ingénieur.
- **Etiévant P.** Les comportements alimentaires : quels en sont les déterminants ? Quelles actions pour quels effets ? Synthèse de l'expertise scientifique collective réalisée par l'INRA à la demande du ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Pêche. Rapport: INRA. 2010;06, 66 p.
- **Eveillard, M. (2007)**. Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat. Ecole doctorale d'Angers. Université d'Angers.
- **Feuillie, C., Formosa-Dague, C., Hays, L.M.C., Vervaeck, O., Derclaye, S., Brennan, M.P., Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Dufrêne, Y.F. 2017**. Molecular interactions and inhibition of the staphylococcal biofilm-forming protein SdrC. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 114(14), 3738-3743.
- **Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K. 2014**. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Microbiology*. 12(1), 49-62.
- **Freeman, C. L., (2006)**. *Staphylococcus aureus* infections. 2ème édition. Philadelphia: Chelsea House Publishers, p 26-41.
- **Freeman D.J., Falkiner FR., Keane CT., 1989**. New method of detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*. 42: 87-84.
- **Garrett, T.R., Bhakoo, M., Zhang, Z. 2008**. Bacterial Adhesion and Biofilms on Surfaces. *Progress in Natural Science*. 18(9), 1049-56.
- **García, P., Benítez, R., Lam, M., Salinas, A. M., Wirth, H., Espinoza, C., ... & Guzmán, A. M. (2004)**. Coagulase-negative staphylococci: clinical, microbiological and molecular features to predict true bacteraemia. *Journal of Medical Microbiology*, 53(1), 67-72.
- **Gassier J, De Saint-Sauveur C. 2008**. Le guide de la puéricultrice ; prendre soin de l'enfant de la naissance à l'adolescence. 2ème Edition Masson,108 p.

## Références bibliographiques

---

- **Géraldine, D. (2009).** Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1).Thèse de doctorat. Sciences agricoles. Université Claude Bernard - Lyon I. Français, p220.
- **Giaouris, E., Heir, E., Hébraud, M., Chorianopoulos, N., Langsrud, S., Moretro, T., ... & Nychas, G. J. (2014).** Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat science*, 97(3), 298-309.
- **Gordon, R.J., Lowy, F.D. 2008.** Pathogenesis of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*, 46, 350-359. Gabi, M., Hefermehl, L., Lukic, D., Zahn, R., Vörös, J., Eberli, D. 2011. Electrical microcurrent to prevent conditioning film and bacterial adhesion to urological stents. *Urological Research*. 39(2), 81-8.
- **Guiraud JP. 1998.** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, paris, pp. 137-652
- **Guiraud J. P. (1998) :** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris, 163-505p.
- Gibson H., Taylor J. H., Hall K. E., Holah J. T. 1995. Biofilms and their detection in the food industry. In: Campden and Chorleywood Food Research Association Report No. 1.
- **Haras, D. 2005.** Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Materiaux & Techniques*. 93, 27–41.
- **Hennekinne, J. A. (2009).** Nouvelles approches pour la caractérisation des toxi-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive. Thèse Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'environnement, Agro Paris Tech. 183p.
- **Hood S.K., E.A. Zottola, 1995.** Biofilms in food processing. *Food control*, 6: 9-18
- **Hood S.K., Zottola E.A. (1997).** Growth media and surface conditioning influence the adherence of *Pseudomonas*, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* cells to stainless steel. *J. Food Protect.* 60: 1034–1037.
- **Hori, K., Matsumoto, S. 2010.** Bacterial adhesion: from mechanism to control. *Biochemical engineering journal*. 48, 424-434.
- **Houry, A., Briandet, R., Aymerich1, S., Gohar, M. 2010.** Involvement of motility and flagella in *Bacillus cereus* biofilm formation *Microbiology*. *Microbiology (Reading)*. 156, 1009-1018.

## Références bibliographiques

---

- **Iversen C., Lane M., Forsythe S.J. (2004).** The growth profile, thermo-tolerance and biofilms formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 38: 378–382.
- **Jacques, M., Aragon, V., Tremblay, Y.D. 2010.** Biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance. *Animal Health Research Reviews.* 11, 97-121.
- **Jørgensen, H. J., Mørk, T., & Rørvik, L. M. (2005).** The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of dairy science,* 88(11), 3810-3817.
- **Kaplan, J.B., Ragonath, C., Velliyagounder, K., Fine, D.H., Ramasubbu, N. 2004.** Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 48(7), 2633-2636.
- **Kara-Terki I. (2014).** Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen 98 page.
- **Karatan, E., Watnick, P. 2009.** Signals Regulatory Networks and Materials That Build and Break Bacterial Biofilms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 73, 310-347.
- **Kiedrowski, M.R., Kavanaugh, J.S., Malone, C.L., Mootz, J.M. Voyich, J.M., Smeltzer, M.S., Bayles, K.W., Horswill, A.R. 2011.** Nuclease Modulates Biofilm Formation in Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *PLOS ONE.* 6, e26714.
- **Klein G. (2011).** Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines. Thèse de doctorat. Université de Bretagne occidentale, Bretagne.
- **Klein G. (2011).** Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Bretagne occidentale, Bretagne. Katsikogianni, M., Missirlis, Y.F. 2004. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria material interactions. *European Cells and Materials Journal.* 8, 37-57.
- **Klinger, C., Filloux, A., Lazdunski, A. 2005.** Les biofilms, forteresses bactériennes. *La recherche.* 389, 42-46.
- **Klinger, C., Filloux, A., Lazdunski, A. 2005.** Les biofilms, forteresses bactériennes. *La recherche.* 389, 42-46.

- **Kloos, W. E., Zimmerman, R. J., & Smith, R. F. (1976).** Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 31(1), 53-59.
- **Kobayashi, S.D., Malachowa, N., DeLeo, F.R. 2015.** Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* abscesses. *American Journal of Pathology*. 185(6), 1518-1527.
- **Kuchma, S.L., Connolly, J.P., O'toole, G.A. 2005.** A three-component regulatory system regulates biofilm maturation and type III secretion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*. 187(4), 1441-1454.
- **Kumar, C.G., Anand, S.K. 1998.** Significance of Microbial Biofilms in Food Industry: A Review. *International Journal of Food Microbiology*. 42(1-2), 9-27.
- **Kusumaningrum, H. D., G. Riboldi, W.C. Hazeleger, and R.R0 Beumer. 2003.** Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *International journal of food microbiology* 85: 227-236
- **Kranjec, C., Morales Angeles, D., Torrissen Mårli, M., Fernández, L., García, P., Kjos, M. Diep, D.B. 2021.** Staphylococcal Biofilms: Challenges and Novel Therapeutic Perspectives. *Antibiotics*. 10(2), 131.
- **Lorite G. S., Rodrigues C. M., de Souza A.A., Kranz C., Mizaikoff B., Cotta M.A., 2011.** The role of conditioning film formation and surface chemical changes on *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm evolution. *J Colloid Interface Sci*. 359:289-95.
- **Lowy, F. D. (1998).** *Staphylococcus aureus* infections. *New England journal of medicine*, 339(8), 520-532. Morea, M. Baruzzi, F., & Cocconcelli, P. S. (1999). Molecular and physiological characterization of dominant bacterial populations in traditional Mozzarella cheese processing. *Journal of Applied Microbiology*, 87(4), 574-582.
- **Labelle R. L., Shallenberger R. S., Way R. D., Mattick L. R. et Moyer J. C., 1960.** The relationship of apple maturity to apple sauce quality. *Food Technology*, 14, 463-468.
- **Langsrud S., M.S. Sidhu, E. Heir, A.L. Holck. 2003.** Bacterial disinfectant resistance challenges for the food industry. *International Biodeterioration & Biodegradation, Hygiene and Disinfection*, 51: 283-290.
- **Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003).** *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res*, 2(1), 63-76.

- **Licitra, G. 2013.** Etymologia: Staphylococcus. *Emerging Infectious Diseases*, 19(9), 1553.
- **Mack, D., Fischer, W., Krokotsch, A., Leopold, K., Hartmann, R., Egge, H., Laufs, R. 1996.** The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear beta-1,6-linked glycosaminoglycan: purification and structural analysis. *Journal of Bacteriology*. 178(1), 175-183.
- **Martineau F. 1997.** Développement de tests de diagnostic basés sur l'ADN pour l'identification de *staphylococcus aureus* et *staphylococcus epidermidis* associés aux infections chez l'humain, université Laval, 120p.
- **Marchand, S. J. De Block, V. De Jonghe, A. Coorevits, M. Heyndrickx, L. Herman. 2012.** Biofilm Formation in Milk Production and Processing Environments; Influence on Milk Quality and Safety *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11: 133-147.
- **Marinelli, P., Pallares, I., Navarro, S., Ventura S. 2016.** Dissecting the contribution of *Staphylococcus aureus*  $\alpha$ -phenol-soluble modulins to biofilm amyloid structure. *Scientific Reports*. 6, 34552.
- **Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D., Fatma T., Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian J Med Microbiol* 24, 25.
- **McDougald, D., Rice, S.A., Barraud, N., Steinberg, P.D., Kjelleberg, S. 2012.** Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*. 10, 39-50.
- **McLellan M. R. et Noguera J. N., 1986.** Effect of fruit firmness and processing parameters on applesauce processing data from R.I. Greening and Rome cultivars. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 19, 172-175.
- **Meddour F. (2012).** Bioadhésion sur supports inertes : Influence de certains paramètres physico-chimique sur la formation d'*Enterococcus faecalis*. Thèse de doctorat en chimie physique et analytique. Institut des sciences et de technologie, Souk- Ahras.
- **Meyer B. 2003.** Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. *International Biodeterioration & Biodegradation, Hygiene and Disinfection*. 51: 249-253.
- **Mootz, J.M., Malone, C.L., Shaw, L.N., Horswill, A.R. 2013.** Staphopains Modulate *Staphylococcus aureus*, Biofilm Integrity. *Infection and Immunity Journal*. 81, 3227-3238.

- **Muhammad M. H., Idris A. L., Fan X., Guo Y., Yu Y., Jin X., ... Huang T. (2020).** Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. *Front Microbiol*, 11, 928.
- **Murthy PS., Venkatesan R. 2008.** Industrial biofilm and their control. Springer series in biofilms.
- **Murray T. D. 2008.** Influence of cold-hardening and soil matric potential on resistance to speckled snow mold in wheat, *Plant Disease* 92:1021-1025.
- **Nicklin J., Graeme-Cook., Paget T., Killington R. 2000.** L'essentiel en microbiologie, 29p.
- **Nilsson, R.E., Ross, T., Bowman, J.P. 2011.** Variability in biofilm production by *Listeria monocytogenes* correlated to strain origin and growth conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 150(1), 14-24.
- **Nguyen-the C., CARLIN F. 1994.** The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 34, n° 4, pp. 371-401.
- **Nguyen-the C., Carlin F. 1999.** Fresh and Processed Vegetables. In microbiological safety and quality of food. Lund Barbara M., Baird-Parker Tony C., Gould Grahame W., vol. 1. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. ISBN 0-8342-1323-0.
- **Nogueira J. N., McLellan M. R. et Anantheswaran R. C., 1985.** Effect of fruit firmness and processing parameters on the particle size distribution in applesauce of two cultivars. *Journal of Food Science*, 50, 744-746.
- **O'May, C., Tufenkji, N. 2007.** The Swarming Motility of *Pseudomonas aeruginosa* Is Blocked by Cranberry Proanthocyanidins and Other Tannin-Containing Materials. *Applied and Environmental Microbiology*. 77, 3061-3067.
- **Otto, M. (2008).** *Staphylococcal* biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol* 322, 207-228.
- **Orenstein, A. 2013.** The discovery and naming of *Staphylococcus aureus*. [http://www.antimicrobe.org/h04c\\_files/history/S-aureus.pdf](http://www.antimicrobe.org/h04c_files/history/S-aureus.pdf).
- **Ouchar Mahamat, A. Tidjani, A. Savadogo, A. Abakabir Mahamat, M. K. Somda, A. S. Traore, (2013).** Isolement Et Caractérisation Des Bactéries Productrices Des Biofilms Issues Des Produits Alimentaires *Microbiol. Ind. San et Environn.* Vol 7, N°2, p: 187-210.
- **Parot, S. (2007).** Biofilms électro actifs : formation, caractérisation et mécanismes. Thèse de doctorat en génie des procédés et de l'environnement. L'institut national Polytechnique de Toulouse, France.

## Références bibliographiques

---

- **Percival, S.L., Malic, S., Cruz, H., Williams, D.W. 2011.** Introduction aux biofilms. In Biofilms and veterinary medicine, Springer, Heidelberg, 41-69.
- **Pérez-Rodriguez F., A. Valero, E. Carrasco, R. Ma. Garcia, G. Zurera. 2008.** Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. Trends in Food Science & Technology 19 131e144.
- **Perez, P. (2013).** Typage de *staphylococcus aureus* par MLVA : étude de faisabilité de la détection par HRM. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de Nancy. Université de Lorraine, France.131p.
- **Perry J-J., Staley J-T., Lorry S. 2004.** Microbiologie, cours et questions de révision, Dunod, Paris,479-480
- **Peryere S. 2011.** Staphylocoques aureus pouvoir pathogène, caractéristiques bactériologiques et résistance, université Bordeaux Segalen, 33p.
- **Peschel, A., Otto, M. 2013.** Phenol-soluble modulins and staphylococcal infection. Nature Reviews Microbiology. 11(10), 667-673.
- **Plusquellec A. 1991.** Produits végétaux. Dans : Bourgois CM. et Leveau JY. (Eds), Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. 2ème Edition, Technique et documentation Lavoisier, Paris, 484p
- **Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Hartigan, P., Fanning, S., & Fitzpatrick E. (2011).** Veterinary microbiology and microbial disease. John Wiley & Sons.
- **Rao M. A., Cooley H. J., Nogueira J. N. et Mc Lellan M. R., 1986.** Rheology of apple sauce: effect of apple cultivar, firmness, and processing parameters. Journal of Food science, 51, 176-179.
- **Raveaux M., 2009,** compte rendu du T.P compote de pommes, BTS STA, génie alimentaire, 15p, en ligne sur eduportfolio.org.
- **Rebiahi, S. A. (2012).** Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement. Université de Tlemcen, Algérie. 131p.
- **Reynal B. (2008),** livre blanc, Compotes, fruits aux sirops et nutrition. Ed. Afidem, 35 p.
- **Robert, D. (2013).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités,

antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de doctorat. Université d'Angers, France.126p.

- **Rohde, H., Burdelski, C., Bartscht, K., Hussain, M., Buck, F., Horstkotte, MA., Knobloch, JK-M., Heilmann, C., Herrmann, M., Mack, D. 2005.** Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation associated protein by staphylococcal and host proteases. *Molecular Microbiology*. 55(6), 1883-1895.
- **Romeo T. (2008).** Bacterial Biofilms. Springer Français, p160.
- **Roux A., et Ghigo J. M. (2006).** Les biofilms bactériens. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 261-268.
- **Roquebert M.F., 1997,** les moisissures : nature, biologie et contamination, en ligne sur [www.culture.gouv.fr](http://www.culture.gouv.fr), consulté le 4 novembre 2008.
- **Samrot A. V., Abubakar Mohamed A., Faradjeva E., Si Jie L., Hooi Sze C., Arif A., ... Kumar S. S. (2021).** Mechanisms and Impact of Biofilms and Targeting of Biofilms Using Bioactive Compounds—A Review. *Medicina (Kaunas)*, 57(8), 839.
- **Sapers, G.M., Doyle, M.P., 2009.** Scope of produce contamination problem. In: Sapers, G.M., Solomon, E.B., Matthews, K.R. (Eds.), *The Produce Contamination Problem — Causes and Solutions*. Elsevier, USA, pp. 3–19.
- **Sapers, G.M., 2001.** Efficacy of washing and sanitizing methods of disinfection of fresh fruit and vegetable products. *Food Technology and Biotechnology* 39 (4), 305–311.
- **Savadogo A., C. A. T. Ouattara, P. W. Savadogo, N. Barro, A. S. Ouattara1, A. S. Traoré(2004).** Identification of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria from Burkina Faso fermented milk samples. *Afri. J. of Biotech.* 3 (3): 189-194.
- **Scheffler R., 2009.** Maximizing sanitation efforts in food processing: the importance of conveyor hygiene *Trends in Food Science & Technology* 20 S40eS43.
- **Schijvens E., Van Vliet T. et Van Dijk C., 1998.** Effect of processing conditions on the composition and rheological properties of applesauce. *Journal of Texture Studies*, 29, 123143.
- **Schlundt J., Toyofuku H. 2008.** Intoxications alimentaires. Manuel - Contrôle des Maladies Transmissibles. 19eme édition.

- **Seaman, P. F. (2007).** Development and horizontal gene transfer of triclosan resistance in *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat: biologie. United States: Cardiff School of Biosciences. Cardiff University, 252p.
- **Seymour, I.J., Burfoot, D., Smith, R.L., Cox, L.A., Lockwood, A., 2002.** Ultrasound decontamination of minimally processed fruits and vegetables. *International Journal of Food Science and Technology* 37, 547–557.
- **Shapiro J. A., (1998)** Thinking about bacterial populations as multicellular organisms. *Annu. Rev; Microbiol.*, 52, 81-104.
- **Simonneau B. 2007.** L'aide à domicile et les staphylocoques, 14p
- **Srey S., I.K. Jahid, S.D. Ha. 2013.** Biofilm formation in food industries : A food safety concern. *Food control*, 31: 572-585.
- **Stanley N. R., LAZAZZERA BA (2004).** Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Mol. Microbiol.*, 52, 917-924.
- **Stoodley, P., Cargo, R., Rupp, C.J., Wilson, S., Klapper, I. 2002.** Biofilm material properties as related to shear-induced deformation and detachment phenomena. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 29(6), 361-367.
- **Spiers, A.J., Bohannon, J., Gehrig, S.M., Rainey, P.B. 2003.** Biofilm formation at the air–liquid interface by the *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader requires an acetylated form of cellulose. *Molecular microbiology*. 50(1), 15-27.
- **Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B S., & Vabic-Vlahovic M. (2000).** A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40, 175–179.
- **Strevett, K.A., Chen, G. 2003.** Microbial surface thermodynamics and applications. *Research in Microbiology*. 154, 329-35.
- **Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W. 2002.** Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annual Review of Microbiology*. 56, 187-209.
- **Tortora G-J., Funke B-R. Case C-L. 2003.** Introduction à la microbiologie. Ed. E.R.P.I, 945p.
- **Touaitia, R. (2016).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de doctorat. Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar

– Annaba, Algérie.154p.

- **Usiak A. M. G., Bourne M. C. et Rao M. A., (1995).** Blanch temperature/time effects on rheological properties of applesauce. *Journal of Food Science*, 60, 1289-1291.
- **Vanassche, T., Peetermans, M., Van Aelst, LNL., Peetermans, WE., Verhaegen, J., Missiakas, DM., Schneewind, O., Hoylaerts, MF., Verhamme, P. 2013.** The role of staphylothrombin-mediated fibrin deposition in catheter-related *Staphylococcus aureus* infections. *The Journal of Infectious Diseases*. 208(1), 92-100.
- **Van Houdt, R., Michiels, C.W. 2005.** Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Research in microbiology*. 156(5), 626-633.
- **Venkatesan, N., Perumal, G., Doble, M. 2015.** Bacterial resistance in biofilm associated with bacteria. *Future Microbiology*. 10, 1743-1750.
- **Wang, R., Braughton, KR., Kretschmer, D., Bach, T-HL., Queck, SY., Li, M., Kennedy, AD., Dorward, DW., Klebanoff, SJ., Peschel, A., DeLeo, FR., Otto, M. 2007.** Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community associated MRSA. *Nature Medicine*. 13(12), 1510-1514.
- **Wattam, A. R., Abraham, D., Dalay, O., Disz, T. L., Driscoll, T., Gabbard, J. L., ... & Machi, D. (2014).** PATRIC, the bacterial bioinformatics database and analysis resource. *Nucleic acids research*, 42(D1), D581-D591.
- **Whitman WB, editor2009.** *Systematic Bacteriology* [Internet]. New York, NY: Springer New York. Available: <http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-68489-5>.
- **Wiley R. C. et Binkley C. R., 1989.** Applesauce and other canned apple products. Dans *Processed apple products* ; Downing D. L., Ed.; pp 215-238.
- **Vlkova H., V. Babak, R. Seydlova, I. Pavlik, and J. Schlegelova. 2008.** Biofilms and hygiene on dairy farms and in the dairy industry: sanitation chemical products and effectiveness on biofilms – a review. *Czech j. food.sci*. Vol. 26, (5): 309-323.
- **Yin W., Xu S., Wang Y., Zhang Y., Chou S.-H., Galperin M. Y., He J. (2020).** Ways to control harmful biofilms: prevention, inhibition, and eradication. *Critical Reviews in Microbiology*, 47(1), 57–78.
- **Zapotoczna, M., McCarthy, H., Rudkin, JK., O’Gara, JP., O’Neill, E. 2015.** An Essential Role for Coagulase in *Staphylococcus aureus* Biofilm Development Reveals New

## Références bibliographiques

---

Therapeutic Possibilities for Device-Related Infections. *The Journal of Infectious Diseases*. 212(12), 1883- 1893.

- **ZOBELL CE (1943)** The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J. Bacterial.*, 46, 39-56.

---

# ANNEXES

---

**Annexe I : les matériels utilisés dans ce travail**

**1. Matériels**

Autoclave, four pasteur, plaque chauffante, agitateur, vortex, balance électrique de précision, centrifugeur étuves électriques à 30°C, 37 °C et à 60°C, microscope optique, réfrigérateur.



Densitomètre



Plaque chauffante



Microscope optique



Centrifugeuse



Vortex



Étuve



Four



Agitateur



Bec bunsen

## 2. Petites matériels et verreries

Portoirs, spatules, pinces, ciseaux, anse de platine, papier film, papiers aluminiums, tubes à essai, flacon stérile, bécher, pipettes pasteurs, pipettes graduées, erlenmeyer, éprouvettes, lames et lamelles.



Flacons



Micropipettes



Embouts



Anses de platine



Erlenmeyers

**Annexe II :** Milieux de cultures, géloses, bouillons et diluants utilisés

**Milieu Baird Parker :** consiste à isoler les *S. aureus*

**Milieu Chapman :** identification des *S. aureus* par dégradation du mannitol

**Milieu Rouge Congo :** Capacité à la formation de biofilm

**Gélose au sang frais :** détecter la propriété d'hémolyse chez les souches

**Gélose nutritive** fortifié pour la suspension bactérienne et la conservation à court terme

**Bouillon nutritif** permet la croissance bactérienne.

**BHIB** : fortifié pour la suspension bactérienne pour la détection du biofilm

**Diluant PBS** : éliminer les cellules non adhérentes

**Diluant au NaCl** : préparation des dilutions

**Annexe III** : Composition des milieux des cultures et leur préparation :

### 1. Milieu Baird Parker

Une masse de 63g par litre, agiter lentement, jusqu'à dissolution complète, répartir en flacons, stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min. Ensuite, un bécher préalablement stérile par une stérilisation sèche à 180°C pendant 30 mns a été utilisé pour la reconstitution du milieu. Afin, l'ajout première 5% (50ml) du jaune d'œuf, à l'aide d'une spatule stérile mélanger sans faire provoquer une mousse, puis ajouter quelques gouttes de la solution tellurique.

Tryptone	10.0g
Extrait de viande de bœuf	4.0g
Extrait de levure	2.0g
Pyruvate de sodium	10.0g
Glycocolle	12.0g
Chlorure de lithium,	5.0g
Agar	20.0g
pH	6.8

### 2. Milieu Chapman

Une masse 111g à l'aide d'une balance électronique, dissoudre le milieu pesé dans l'eau distillée d'1L, puis agiter sur une plaque chauffante jusqu'à ébullition et dissolution totale, par la suite répartir dans des flacons pour une stérilisation de 121C pendant 15 mns.

Extrait de viande de bœuf	1.0g
Peptone	11.0g
Chlorure de sodium	75.0g
Mannitol	10.0g
Agar	15.0g
Rouge de Phénol	0.025g
pH	7.5

### **3. Milieu Rouge Congo**

La formation de biofilm a été recherchée sur le milieu Rouge Congo. Ce milieu a été préparé en : additionnant 0.8 g de Rouge Congo, 50g de saccharose, 37g de BHIB et d'Agar 10g et par la suite ajouter 1l d'eau distillée porter le tout sur une agitation et chauffage pour une dissolution complète. Puis autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

Rouge Congo	1.0g
Saccharose	11.0g
BHIB	75.0g
Agar	10.0g

### **4. Gélose au sang Frais**

Tout d'abord préparer la gélose nutritive en pesant 28 g du solide puis dissoudre dans 1l d'eau distillée par la suite agiter, soumettre à un chauffage pour dissolution totale et stériliser à 121C pendant 15 mins. Ensuite, refroidir a 50C et prélever 50 ml de sang frais du cheval et introduire dans la gélose préparée.

Peptone	5.0g
Extrait de viande	1.0g
Extrait de levure	2.5g
Chlorure de sodium	5.0g
Agar	15g
pH	7.0

### **Bouillon BHIB**

---

Le BHIB a l'état pur dans sa boîte est un bouillon riche de 0.25% de glucose. La préparation de BHIB est suivie par un processus qui consistait d'abord à la pesée de 37g de produit qui par la suite est dissout dans 1l d'eau distillée. Ensuite passer à une agitation et chauffage à ébullition sur une plaque afin de d'obtenir une dissolution totale. Passer à une stérilisation a 121C pendant 15 mns.

Protéase-peptone	10.0g
Infusion de cœur de bœuf	5.0g
Hydrogénophosphate	2,5g
Infusion de cervelle de veau	12,5g
Glucose	2.0g
Chlorure de sodium,	5.0g
pH	7.4

### 5. Bouillon Nutritif

Peser 20g du bouillon solide puis ajouté 1l d'eau distillée. Ensuite porter le tout sur la plaque a deux systèmes (agitation et chauffage jusqu'à dissolution complète). Afin passer à la stérilisation pendant 121 C pendant 15 mns.

Peptone	15.0g
Extrait de levure	3.0g
Glucose	1,0g
Chlorure de sodium,	6,0g
	7,4

**6. Diluant PBS**

NaCl	7,6g
KCl	0.2g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,71g
NaHPO <sub>4</sub>	0,245g

## RESUME

L'alimentation du nourrisson constitue une étape cruciale pour assurer une croissance saine et un développement optimal. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande un allaitement maternel exclusif pendant les six premiers mois, suivi d'une diversification alimentaire progressive. Parmi les aliments introduits durant la période de sevrage (6 à 24 mois), les compotes de fruits occupent une place importante. Toutefois, ces produits peuvent être exposés à une contamination microbiologique, notamment par *Staphylococcus aureus*, une bactérie pathogène capable de produire des toxines et de former des biofilms. Les biofilms représentent un enjeu sanitaire majeur dans l'industrie agroalimentaire, car ils favorisent la persistance des microorganismes, leur résistance aux traitements de désinfection, et peuvent contaminer les produits finis. Ce mémoire a pour objectif d'isoler et d'identifier les souches de *S. aureus* à partir de compotes de fruits destinées aux nourrissons, et d'étudier leur capacité de formation de biofilms par deux méthodes : une approche qualitative (test au Rouge Congo) et une approche quantitative (coloration au cristal violet sur verre et microplaques en PVC). Les résultats ont montré que les échantillons de compotes présentaient une forte présence de *Staphylococcus* où l'échantillon 1 était le plus chargé avec une valeur de  $14,363.10^3$  UFC/ml, l'échantillon 3 avec  $13,045.10^3$  UFC/ml et l'échantillon 2 avec une valeur inférieure  $7,424.10^3$  UFC/ml.

Aussi, les tests biochimiques attestaient qu'ils s'agissaient bel et bien de *S. aureus* qui était responsable de cette contamination. En ce qui concerne la capacité de formation de biofilm sur les microplaques à 96 puits, 8/9 souches présentaient une faible formation de biofilm et 1/9 était non formatrice à une échelle de temps différente. Dans le cas des lames en verre, 1/3 était non formatrice et 2/3 faiblement formatrices. Et le dernier paramètre qui consistait à l'ensemencement sur le rouge congo, 7/9 souches ont formé des slime, 1/9 présentait un début de formation de slime et 1/9 était non formatrice de slime. Ces résultats vont constituer une base pour détection de la contamination des produits au sein des différentes industrie.

**Mots clés :** *Staphylococcus aureus*, compotes, biofilm, industrie alimentaire

## ABSTRACT

Infant feeding is a crucial stage in ensuring healthy growth and optimal development. The World Health Organization (WHO) recommends exclusive breastfeeding for the first six months, followed by gradual food diversification. Among the foods introduced during the weaning period (6 to 24 months), fruit compotes play an important role. However, these products can be exposed to microbiological contamination, particularly by *Staphylococcus aureus*, a pathogenic bacterium capable of producing toxins and forming biofilms. Biofilms represent a major health issue in the agri-food industry, as they encourage the persistence of microorganisms, their resistance to disinfection treatments, and can contaminate finished products. The aim of this dissertation was to isolate and identify *S. aureus* strains from fruit compotes intended for infants, and to study their capacity to form biofilms using two methods: a qualitative approach (Congo Red test) and a quantitative approach (crystal violet staining on glass and PVC microplates). The results showed that the compote samples were highly contaminated with *Staphylococcus*, with sample 3 being the most contaminated at  $13,045.10^3$  CFU/ml, sample 1 at  $14,363.10^3$  CFU/ml and sample 2 at  $7,424.10^3$  CFU/ml. Biochemical tests also confirmed that it was indeed *S. aureus* that was responsible for this contamination. In terms of biofilm-forming capacity on 96-well microplates, 8/9 strains were weakly biofilm-forming and 1/9 were non-forming on a different time scale. In the case of glass slides, 1/3 were non-forming and 2/3 weakly forming. And the last parameter, which consisted of seeding on red congo, 8/9 strains formed slime, 1/9 showed the beginnings of slime formation and 1/9 was non-slime-forming. These results will provide a basis for detecting product contamination within various industries.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, compotes, biofilm, food industry

## استنتاج

تعتبر تغذية الرضع مرحلة حاسمة في ضمان النمو الصحي والتطور الأمثل. وتوصي منظمة الصحة العالمية (WHO) بالرضاعة الطبيعية الحصرية خلال الأشهر الستة الأولى، يليها التنوع التدريجي للأغذية. من بين الأطعمة التي يتم تقديمها خلال فترة الفطام (من 6 إلى 24 شهراً)، تلعب كومبوت الفاكهة دوراً مهماً. ومع ذلك، يمكن أن تتعرض هذه المنتجات للتلوث الميكروبيولوجي، خاصةً من قبل المكورات العنقودية الذهبية، وهي بكتيريا مسببة للأمراض قادرة على إنتاج السموم وتشكيل الأغشية الحيوية. وتمثل الأغشية الحيوية الرقيقة مشكلة صحية كبيرة في صناعة الأغذية الزراعية، لأنها تشجع على استمرار الكائنات الحية الدقيقة ومقاومتها لعلاجات التطهير، ويمكن أن تلوث المنتجات النهائية. تهدف هذه الأطروحة إلى عزل وتحديد سلالات *Staphylococcus aureus* من كومبوت الفاكهة المخصص للرضع، ودراسة قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية باستخدام طريقتين: نهج نوعي (اختبار الكونغو الأحمر) ونهج كمي (تلطيخ الكريستال البنفسجي على قوالب زجاجية وبلاستيكية دقيقة). وأظهرت النتائج أن عينات الكومبوت احتوت على مستوى عالٍ من المكورات العنقودية، حيث كانت العينة 3 تحتوي على أعلى مستوى عند  $13,045.10^3$  وحدة من البكتيريا العنقودية/مليتر، والعينة 1 عند  $14,363.10^3$  وحدة من البكتيريا العنقودية/مليتر، والعينة 2 عند  $7,424.10^3$  وحدة من البكتيريا العنقودية/مليتر. كما أكدت الاختبارات البيوكيميائية الحيوية أن المكورات العنقودية الذهبية كانت مسؤولة بالفعل عن التلوث. فيما يتعلق بالقدرة على تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة على قوالب ميكروفيلمية 96 بئر، أظهرت 8/9 سلالات تكوين القليل من الأغشية الحيوية الرقيقة و 1/9 كانت غير متكونة على نطاق زمني مختلف. وفي حالة الشرائح الزجاجية، كانت 1/3 سلالات غير متشكلة و 2/3 كانت ضعيفة التكوين. وفي المتغير الأخير، والذي تمثل في البذر على الكونغو الأحمر، شكلت 7/9 سلالات سلايم و 1/9 أظهرت بدايات تشكيل السلايم و 1/9 كانت غير مشكلة للسلايم. ستوفر هذه النتائج أساساً للكشف عن تلوث المنتج في الصناعات المختلفة.

**الكلمات المفتاحية:** المكورات العنقودية الذهبية، كومبوت، غشاء حيوي، صناعة الأغذية