

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENVIRENNEMENT MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT
SUPÉRIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID TLEMCEEN
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ,DE LA TERRE
DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE



Mémoire

Master en Sécurité agro-alimentaire et assurance qualité

Présentée par :

DJEDIANE Roumaïssa

**Étude de l'influence de l'hydrophobicité des souches
bactériennes isolées de l'industrie laitière sur leur pouvoir
de formation de biofilms.**

Soutenu le, devant le jury composé de : 23 juin 2026

Présidente	DIDOUH Nassima	M.C.A	Université de Tlemcen
Examinatrice	BOUMEDIENE Karima	M.C.B	Université de Tlemcen
Promotrice	BEY Faiza	M.A.A	Université de Tlemcen

Année universitaire :2025/2026

Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, directement ou indirectement, à la réalisation de ce mémoire.

Je rends grâce à Allah, le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la santé, la persévérance, la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à mon encadrante, **Madame Bey Faiza**, pour son encadrement rigoureux, sa disponibilité, ses conseils avisés et son soutien constant tout au long de cette étude. Son expertise scientifique et ses orientations pertinentes ont constitué un apport précieux à l'élaboration de ce mémoire.

J'exprime également ma reconnaissance aux membres du jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant d'évaluer ce travail et pour l'intérêt qu'ils lui portent.

Mes remerciements s'adressent à l'ensemble des enseignants du département de biologie, qui ont contribué à ma formation universitaire par la transmission de leurs connaissances et de leur expérience.

Je remercie également le personnel des laboratoires pour leur disponibilité, leur assistance technique et les conditions de travail qu'ils ont mises à ma disposition durant la réalisation de la partie expérimentale.

Je souhaite témoigner ma profonde reconnaissance à ma famille pour son soutien indéfectible, ses encouragements et sa confiance tout au long de mon parcours académique.

Une pensée toute particulière est dédiée à la mémoire de mon père, aujourd'hui disparu. Son souvenir, ses valeurs et les enseignements qu'il m'a transmis demeurent une source permanente de motivation et de détermination. Que Dieu lui accorde Sa miséricorde et l'accueille dans Son vaste paradis.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Dédicace

C'est avec une profonde émotion et une immense gratitude que je dédie ce mémoire à celles et ceux qui ont marqué mon parcours personnel et académique.

À la mémoire de mon père bien-aimé, dont l'absence demeure une épreuve, mais dont les valeurs, les principes et l'amour continuent d'éclairer mon chemin. Son souvenir restera à jamais une source de force, de courage et de détermination. Que Dieu lui accorde Son infinie miséricorde et l'accueille dans Son vaste paradis.

À ma très chère mère, pour son amour inconditionnel, son soutien indéfectible, ses sacrifices et ses encouragements constants. Son dévouement et sa confiance ont constitué une source de motivation essentielle tout au long de mon parcours universitaire. Qu'elle trouve dans ce travail le témoignage de ma profonde reconnaissance et de mon affection.

À mes frères et sœurs, pour leur présence, leur soutien moral et leur encouragement tout au long de ces années d'études.

À l'ensemble de ma famille, pour sa bienveillance, sa confiance et son soutien permanent dans les moments les plus importants de ma vie.

À mes amis et à toutes les personnes qui m'ont accompagnée, encouragée et soutenue de près ou de loin durant la réalisation de ce mémoire.

Enfin, je dédie ce travail à tous ceux qui croient en la valeur du savoir, de la persévérance et de l'excellence, avec l'espoir que cette contribution puisse enrichir, même modestement, le domaine de la recherche scientifique.

À tous, j'exprime mon profond respect, ma gratitude et ma sincère reconnaissance.

Roumaissa

Liste des figures

Figure 1:Etapes de formation de biofilm microbien.....	10
Figure 2:Les étapes de la revivification des souches.....	14
Figure 3:Les étapes de l'hydrophobicité de la surface cellulaire (CSH).....	16
Figure 4:Les étapes de formation de biofilm en acier inoxydable.....	17
Figure 5:Les étapes de dénombrement des bactéries adhérentes.....	18
Figure 6:Les étapes de formation des biofilms sur microplaque de titration.....	19
Figure 7:les étapes de l'identification par Galerie API 20 E.....	22
Figure 8:l'ajout des réactifs.....	23
Figure 9:L'aspect macroscopique des isolats.....	26
Figure 10:Observation microscopique des isolats après coloration de Gram.	27

Liste des tableaux

Tableau 1:Composition d'un biofilm bactérien (Muhsin et al., 2015)	6
Tableau 2:Résultats de l'observation macroscopique.....	25
Tableau 3:Résultats de coloration de Gram des isolats.	27
Tableau 4:Résultats de la technique MATH (Microbial Adhésion To Hydrocarbon)	28
Tableau 5:Résultats de nombre de bactéries adhérees à l'acier inoxydable.....	29
Tableau 6:Résultats de la technique TCP	32
Tableau 7:le résultat de la galerie API 20E.....	33

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AMY : Amygdaline.

AP : Après pasteurisation.

API 20 : Analytical Profile Index 20.

ARN : Acide ribonucléique.

AV : Avant pasteurisation.

BAL : Bactéries acides lactiques.

BHIB : Bouillon Cœur-Cerveille (Brain Heart Infusion Broth).

CIP : Cleaning In Place (Nettoyage en place).

CIT : Citrate de sodium.

CSH : Cell Surface Hydrophobicity (Hydrophobicité de la surface cellulaire).

DO : Densité optique.

EPS : Exopolysaccharides (Substances polymériques extracellulaires).

GEL : Gélatine.

GLU : Glucose.

H₂S : Sulfure d'hydrogène.

IND : Indole.

INO : Inositol.

LDC : Lysine décarboxylase.

LR : Lait recombiné.

MAN : D-mannitol.

MEL : Mélibiose.

MET : Microscopie électronique à transmission.

MSA : de Man, Rogosa and Sharpe Agar.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG : Ortho-Nitrophényl-β-D-Galactopyranoside.

PCA : Plate Count Agar.

PBS : Phosphate Buffered Saline (Solution saline tamponnée au phosphate).

SF : Saison froide.

TDA : Tryptophane désaminase.

URE : Uréase.

VP : Test de Voges-Proskauer.

Table des matières

Remerciements.....	
Dédicace	
Liste des figures	
Résumé	
Abstract	
ملخص.....	
Introduction	1
Synthèse bibliographique.....	2
1. Définition du biofilm:	4
2. Diversité des biofilms	4
3. Caractéristiques des biofilms.....	5
4. Composition et organisation du biofilm.....	5
5. Les étapes de formation d'un biofilm	6
5.1 Formation d'un film conditionnant.....	6
5.2 Adhésion	7
5.2.1 Adhésion réversible.....	7
5.2.2 Adhésion irréversible.....	7
5.3 Formation de micro-colonies	8
5.4 Maturation.....	8
5.4.1 La maturation-1.....	8
5.4.2 La maturation-2.....	8
5.5 Dispersion du biofilm	9
6. Les biofilms dans le secteur agroalimentaire (IAA)	10
7. Les biofilms en industrie laitière	10
8. Biofilms et transformation des aliments.....	11
Matériel et méthodes.....	13
1. Origine des souches	14
2. Revivification et vérification de la pureté des souches.....	14
3. Caractérisation phénotypique des isolats	15
3.1 Caractères macroscopiques	15
3.2 Caractères microscopiques.....	15

4. Hydrophobicité des souches.....	15
4. Capacité à former un biofilm en acier inoxydable.....	16
5. Formation de biofilm sur microplaque de titration.....	19
7. Identification par Galerie API 20 E.....	20
Résultats et discussion.....	24
1. Identification des souches isolées.....	25
1.1 Aspect macroscopique (Morphotypes) des isolats.....	25
1.2. Aspect microscopique des isolats.....	26
2. Hydrophobicité des souches.....	28
3. Capacité des souches à former un biofilm sur des surfaces en acier inoxydable.....	29
4. Résultats de la technique TCP (Tissue Culture Plate).....	31
5. Résultats de galerie API 20E.....	33
Conclusion.....	34
Références bibliographiques.....	37
Annexes.....	46

Résumé

Les biofilms bactériens constituent un enjeu majeur dans l'industrie laitière en raison de leur implication dans la contamination des équipements de production et de leur capacité à assurer la persistance des microorganismes dans l'environnement industriel. L'adhésion des cellules bactériennes aux surfaces représente l'étape initiale et déterminante du processus de formation du biofilm. Cette adhésion est influencée par plusieurs facteurs, notamment les propriétés physicochimiques de la surface cellulaire, parmi lesquelles l'hydrophobicité joue un rôle essentiel.

La présente étude a été menée dans le but d'évaluer l'influence de l'hydrophobicité des souches bactériennes isolées de l'environnement laitier sur leur aptitude à former des biofilms. Après leur isolement, les souches ont été caractérisées par des méthodes microbiologiques et biochimiques, puis identifiées à l'aide de la galerie API 20E. L'hydrophobicité cellulaire a été déterminée par la technique MATH (Microbial Adhesion to Hydrocarbons), tandis que la capacité de formation du biofilm a été évaluée par la méthode TCP (Tissue Culture Plate) ainsi que sur des surfaces en acier inoxydable.

Les résultats de la technique MATH ont révélé des taux d'hydrophobicité variant de 14,6 % à 47,4 %. La majorité des souches ont présenté une hydrophobicité modérée, alors qu'une seule souche a été caractérisée par une faible hydrophobicité. L'évaluation du potentiel de formation du biofilm par la méthode TCP (Tissue Culture Plate) a mis en évidence des valeurs de densité optique (DO570) comprises entre 0,247 et 2,162. Toutes les souches étudiées se sont révélées capables de former un biofilm, avec des niveaux de production variables allant de modérément formatrices à fortement productrices de biofilm.

L'ensemble de ces résultats suggère l'existence d'une association entre les propriétés hydrophobes de la surface cellulaire bactérienne et la capacité d'adhésion ainsi que de formation du biofilm. Cette étude met en évidence l'importance de la caractérisation de l'hydrophobicité bactérienne dans la compréhension des mécanismes de colonisation des surfaces au sein de l'industrie laitière et contribue à l'amélioration des stratégies de prévention et de maîtrise des contaminations microbiologiques.

Mots-clés : Hydrophobicité bactérienne ; Formation de biofilm ; Industrie laitière ; Acier inoxydable.

Abstract

Bacterial biofilms represent a major challenge in the dairy industry due to their involvement in the contamination of production equipment and their ability to promote the persistence of microorganisms in industrial environments. Bacterial adhesion to surfaces constitutes the initial and crucial step in the biofilm formation process. This adhesion is influenced by several factors, particularly the physicochemical properties of the bacterial cell surface, among which hydrophobicity plays a key role.

The present study aimed to evaluate the influence of the hydrophobicity of bacterial strains isolated from the dairy environment on their ability to form biofilms. Following isolation, the strains were characterized using microbiological and biochemical methods and identified using the API 20E system. Cell surface hydrophobicity was determined using the MATH (Microbial Adhesion to Hydrocarbons) technique, while biofilm-forming ability was assessed using the TCP (Tissue Culture Plate) method as well as on stainless steel surfaces.

The MATH assay revealed hydrophobicity values ranging from 14.6% to 47.4%. Most of the strains exhibited moderate hydrophobicity, whereas only one strain showed low hydrophobicity. Evaluation of biofilm formation by the TCP method demonstrated optical density (OD₅₇₀) values ranging from 0.247 to 2.162. All tested strains were capable of forming biofilms, with varying levels of production, ranging from moderate to strong biofilm producers. Overall, these findings suggest a relationship between the hydrophobic properties of the bacterial cell surface and the ability of the strains to adhere to surfaces and form biofilms. This study highlights the importance of characterizing bacterial hydrophobicity to better understand surface colonization mechanisms in the dairy industry and to contribute to the development of effective strategies for the prevention and control of microbial contamination.

Keywords: Bacterial hydrophobicity; Biofilm formation; Dairy industry; Stainless steel;

الملخص

تُعدّ الأغشية الحيوية البكتيرية (Biofilms) من أهم التحديات التي تواجه الصناعة اللبنية، نظراً لدورها في تلوث معدات الإنتاج وقدرتها على ضمان بقاء الكائنات الحية الدقيقة واستمرارها في السبائك الصناعية. ويُعتبر التصاق الخلايا البكتيرية بالأسطح المرحلة الأولى والحاسمة في عملية تكوين الغشاء الحيوي، حيث تتأثر هذه العملية بعدة عوامل، من بينها الخصائص الفيزيائية والكيميائية لسطح الخلية البكتيرية، والتي تُعدّ الكارهية للماء (الهيدروفوبية) من أهمها. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير هيدروفوبية السلالات البكتيرية المعزولة من البيئة اللبنية على قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية. وبعد عزل السلالات، تم توصيفها باستعمال الطرق الميكروبيولوجية والكيميائية الحيوية، ثم تم التعرف عليها باستخدام نظام API 20E. كما تم تقييم هيدروفوبية السطح الخلوي باستعمال تقنية MATH (الالتصاق الميكروبي بالهيدروكربونات)، في حين تم تقييم القدرة على تكوين الغشاء الحيوي باستعمال تقنية TCP (صفحة زراعة الأنسجة) وكذلك على أسطح من الفولاذ غير القابل للصدأ.

أظهرت نتائج اختبار MATH أن قيم الهيدروفوبية تراوحت بين 14.6% و 47.4%، حيث أظهرت معظم السلالات هيدروفوبية متوسطة، بينما تميزت سلالة واحدة فقط بهيدروفوبية ضعيفة. كما بينت نتائج تقييم تكوين الأغشية الحيوية باستخدام تقنية TCP أن قيم الكثافة الضوئية (OD570) تراوحت بين 0.247 و 2.162. وقد أظهرت جميع السلالات المدروسة قدرة على تكوين الأغشية الحيوية بدرجات متفاوتة، تراوحت بين سلالات متوسطة التكوين وسلالات قوية الإنتاج للغشاء الحيوي. تشير هذه النتائج إلى وجود علاقة بين الخصائص الهيدروفوبية لسطح الخلية البكتيرية وقدرتها على الالتصاق بالأسطح وتكوين الأغشية الحيوية. وتبرز هذه الدراسة أهمية توصيف الهيدروفوبية البكتيرية لفهم آليات استعمار الأسطح في الصناعة اللبنية بشكل أفضل، والمساهمة في تطوير استراتيجيات فعالة للوقاية من التلوثات الميكروبية والسيطرة عليها.

الكلمات المفتاحية: كراهية البكتيريا للماء؛ تكوين الأغشية الحيوية؛ الصناعة اللبنية؛ الفولاذ المقاوم للصدأ.

Introduction

La présence constante d'une microflore sur les équipements laitiers, capable de générer un biofilm, soulève de vives inquiétudes en raison des pertes économiques qu'elle cause et du danger qu'elle représente pour la santé publique **(Didouh et al., 2013)**.

La création de biofilms par les micro-organismes est une occurrence fréquente dans le domaine de l'alimentation, en particulier dans l'industrie laitière **(Liu et al., 2023)**. Selon **(Donlan.2002)**, le biofilm représente un regroupement de cellules microbiennes qui sont fixées de façon irréversible à une surface et confinées à une matrice de substance polymérique extracellulaire. Les biofilms représentent un défi pour les secteurs alimentaires, étant donné que les micro-organismes qui les constituent peuvent se fixer sur une variété de surfaces, incluant le caoutchouc, le polypropylène, le polystyrène, le plastique, le verre, l'acier inoxydable et une multitude d'autres matériaux en contact avec les aliments **(Olanbiwoninu et Popoola, 2023 ; Abdallah et al., 2014)**. Ils sont à l'origine de la dégradation des aliments, des maladies alimentaires et des dégradations des matériaux de transformation des aliments **(Cirkovic, 2021)**.

Dans l'industrie du lait, la création de biofilms est influencée par une multitude de facteurs. Parmi eux, la composition du lait, y compris le lactose, qui est capable de modifier l'adhésion bactérienne et par conséquent de stimuler la création de biofilms **(Alonso et al., 2022 ; Xue et al., 2014)**. Il est essentiel de comprendre les facteurs qui favorisent leur croissance ou leur progression pour pouvoir les éliminer, car on sait que les produits laitiers sont particulièrement exposés à la contamination par les biofilms et qu'il est difficile d'éradiquer ces microorganismes **(Carrascosa et al., 2021 ; Srey et al., 2013)**.

Notre travail a pour objectif d'avoir une connaissance de la flore bactérienne présente dans une industrie laitière et d'étudier et évaluer leur hydrophobicité et leur potentiel de formation de biofilm.

Trois parties composent le manuscrit.

Dans la partie concernant la synthèse bibliographique, nous aborderons l'historique des biofilms en général.

La seconde partie sera dédiée à l'explication de la méthodologie.

Et pour finir, la dernière partie se concentrera sur les résultats et leur discussion.

Synthèse bibliographique

Historique :

L'observation des biofilms étant peu efficace, leur détection a été ardue. Arthur Henrici a fait la découverte des biofilms en 1933, alors qu'il réalisait des expériences sur la croissance d'algues placées sur une lame de verre et immergées dans un aquarium. Il constate que les micro-organismes, lorsqu'ils sont en milieux aqueux, vivent en sociétés structurées, fixés sur un substrat, entourés d'une matrice et non de manière planctonique (cellules indépendantes, dérivant librement dans un environnement liquide). Même si le mot « biofilm » n'est pas encore employé, l'idée est déjà née. **(Hall-Stoodley et al., 2002).**

Deux ans après les recherches d'Henrici, Claude Ephraïm Zobell, pionnier dans l'étude des micro-organismes et des processus microbiens océaniques, a perpétué les travaux sur les biofilms. Il a aussi examiné le comportement des micro-organismes (bactéries) dans un environnement aquatique : les processus de fixation réversible/irréversible et l'émergence de micro-colonies, qui représentent les premières phases de la création d'un biofilm **(Prescott et al., 2010 ; Sanchez et al., 2013).**

C'est à partir des années 1970, grâce à l'émergence de nouvelles méthodes, que la recherche sur les biofilms a véritablement décollé. Les méthodes principalement employées comprenaient la microscopie électronique à balayage et les cultures microbiologiques. Grâce à l'utilisation d'un colorant spécifique de polysaccharide, le rouge de Ruthénium, associé à un fixateur tel que le tétroxyde d'osmium, les scientifiques ont pu démontrer que la matrice qui entoure et renferme les cellules au sein de ces biofilms est constituée de polysaccharides.

Plusieurs années plus tard, en étudiant la plaque dentaire et les communautés fixes dans les rivières de montagne, Costerton et son équipe ont formulé une théorie sur les processus impliqués dans l'adhésion des micro-organismes aux matériaux vivants et inanimés. L'expression « biofilms » est introduite pour la première fois, en présumant que cela représenterait le mode de vie naturel choisi par une multitude de micro-organismes **(Quigley et al., 2013).**

De nombreuses recherches sur les biofilms ont été menées aujourd'hui, que ce soit dans le secteur médical, industriel ou dans l'environnement naturel.

1. Définition du biofilm:

Les biofilms sont définis comme des agrégats de micro-organismes dont les cellules sont fréquemment enfermées dans une matrice auto-produite, formée de substances polymériques extracellulaires (EPS), assurant leur cohésion et/ou leur adhésion à une surface **(Olaimat et al., 2024)**.

Le concept « agrégat » fait référence au fait que la plupart des cellules dans les biofilms multicouches interagissent de cellule à cellule, tant dans le cas des biofilms adhérant à la surface, où une unique couche est en contact direct avec le substrat, que sous forme de flocs. Des biofilms mobiles se constituent en l'absence complète de substrat **(Ragypathi et al., 2018)**. On peut le définir comme une communauté de micro-organismes qui se fixent et s'intègrent à une surface.

Dans une matrice riche en polymères extracellulaires, ce style de vie sédentaire est à l'opposé du mode de vie planctonique, où les bactéries sont éparpillées et se déplacent librement dans un fluide **(Carrascosa et al., 2021)**.

2. Diversité des biofilms :

Dans le milieu naturel, les bactéries se présentent sous deux formes distinctes : la forme planctonique (où les bactéries sont indépendantes et dérivent dans leur environnement) et la forme de biofilm. **(Bos et al., 2000)**.

Elles ont la capacité de se transformer d'une forme à une autre, quand elles existent sous forme planctonique, les bactéries se multiplient et envahissent les environnements où elles se trouvent, cette forme est peu répandue. La forme prédominante de vie des bactéries dans l'environnement est celle du biofilm. Les bactéries en suspension (planctoniques) vont se fixer de manière irréversible à une surface et croître. Au cours de ce développement, elles généreront des polymères extracellulaires qui s'accumuleront pour constituer une matrice extracellulaire riche en eau. Ces bactéries seront fixées dans cette matrice, et leur proximité facilitera les échanges de nutriments et de signaux **(Daniel et al., 2004)**.

La colonie bactérienne peut survivre dans son environnement sans risque de prolifération en adoptant une existence en biofilm, qui lui offre une défense contre divers stress environnementaux (comme l'exposition à des agents antimicrobiens/antibactériens) **(Gundz et Tuncel, 2006)**.

Les biofilms se caractérisent par une grande diversité structurale, pouvant être formés d'une ou de plusieurs espèces de micro-organismes. L'épaisseur de la couche de microorganismes peut varier (une ou plusieurs couches de microorganismes) et leur organisation peut différer d'un biofilm à l'autre. **(Accepte et al., 2014)**

3. Caractéristiques des biofilms :

Les biofilms sont le produit de processus systématiques cycliques complexes qui nécessitent des particules organiques et inorganiques, ainsi que les micro-organismes présents sur des surfaces humides. Ces derniers fabriquent des EPS (exopolysaccharides), des biopolymères qui jouent un rôle dans le processus d'adhésion du biofilm. La composition et la structure de ces assemblages biologiques présentent une forte variabilité. **(Evans.2003)**

Ce changement découle de ce processus complexe, influencé par : les propriétés du lieu de formation du biofilm, les conditions environnementales y compris les nutriments, l'oxygène, les surfaces collantes, la pression ambiante, la température et le pH, ainsi que les molécules présentes initialement à la surface **(Yuan et al., 2020)**.

Les biofilms peuvent être constitués d'une ou plusieurs espèces bactériennes et se forment sur diverses interfaces telles que le caoutchouc, le polypropylène, le plastique, le verre, l'acier inoxydable ainsi que sur les produits alimentaires, en l'espace de quelques minutes seulement, ce qui est ensuite suivi par la formation de biofilms matures, après quelques jours **(Carrascosa et al., 2021)**.

4. Composition et organisation du biofilm :

Le biofilm est principalement composé de micro-organismes et de la matrice qu'ils produisent., les microorganismes constituent de 2 à 5 % de la composition du biofilm. Ce dernier peut être formé d'une ou plusieurs espèces de bactéries, mais aussi de champignons, d'algues et protozoaires. Par ailleurs, la matrice extracellulaire peut représenter entre 50 et 90 % de la masse organique carbonée du biofilm **(Lock, 1993 ; Bellifa, 2014)**.

La matrice des biofilms bactériens est principalement constituée d'eau (qui peut atteindre 97%), de polymères polysaccharidiques sécrétés par les microorganismes, de produits issus de la dégradation et de substances dérivées de l'environnement extérieur. Toutefois, on peut aussi découvrir d'autres éléments comme de l'ADN, de l'ARN, des protéines, des tensioactifs, des lipides, des glycolipides et des cations **(Sutherland.2001)**.

La composition de la matrice change en fonction de l'espèce bactérienne et des conditions de croissance (Yannick et al., 2014).

Tableau 1: Composition d'un biofilm bactérien (Muhsin et al., 2015)

Composés	Pourcentage dans la matrice
Cellules microbiennes	2-5%
Protéines	1-2%
Polysaccharides	<1-2%
ADN /ARN	<1-2%
Eau	Supérieur à 97%

5. Les étapes de formation d'un biofilm :

Le modèle généralement admis de formation de biofilm comporte cinq phases. (Tomé et al., 2023).

5.1 Formation d'un film conditionnant :

Les molécules organiques absorbées sur la surface, qui agissent en tant que conditionnement de celle-ci, servent de signal nutritionnel, déclenchant ainsi le processus de création du biofilm. Ce film va changer les propriétés physico-chimiques de la surface, telles que la tension de surface et la polarité, sont capables d'inhiber ou de stimuler l'adhésion des bactéries. Il se peut que des charges négatives soient acquises, ce qui pourrait entraîner une diminution de l'hydrophobicité. Les éléments de ce film constitueront un substrat pour les micro-organismes qui se fixeront à la surface. (Tomé et al., 2023).

L'accumulation de molécules à l'interface entre le solide et le liquide sur les surfaces en contact avec les aliments conduit à une concentration plus élevée de nutriments comparativement à la phase liquide. (Kumar et Anand, 1998).

Après un conditionnement rapide de la surface, l'étape suivante consiste à déplacer les microorganismes près de cette dernière. Ce mouvement est facilité par les propriétés dynamiques de l'environnement et les caractéristiques physicochimiques de la surface du substrat. En outre, divers appendices bactériens tels que Les cils, les flagelles ont un rôle crucial dans ce processus (Ziadi.2017).

5.2 Adhésion :

La deuxième étape de la formation des biofilms implique l'attachement des micro-organismes à la surface préparée. Ce mécanisme peut être actif ou passif, en fonction de la mobilité bactérienne ou du déplacement des cellules planctoniques par forces dynamiques des fluides, diffusion ou gravité depuis la phase fluide environnante.

Les caractéristiques physicochimiques de la surface des cellules bactériennes sont cruciales pour définir l'adhésion des cellules durant cette phase préliminaire d'attachement. **(VanLoosdrecht et al., 1990)**. La disponibilité des nutriments dans l'environnement et le stade de développement des cellules bactériennes ont aussi un impact sur l'adhésion bactérienne. Ce processus d'adhésion cellulaire s'effectue essentiellement en deux phases une adhésion réversible, suivie d'une fixation irréversible. **(Kumar et Anand, 1998)**.

5.2.1 Adhésion réversible :

Une partie des bactéries planctoniques transportées par l'eau se fixe sur les parois des tuyaux grâce à un processus d'adsorption réversible. Ce processus est essentiellement dirigé par des interactions physiques comme les forces électrostatiques et électrodynamiques. Il est affecté par les caractéristiques naturelles et l'état initial du support, Les bactéries ne se fixent sur le substrat que de façon éphémère (figure1-1) et peuvent aisément se détacher sous l'influence des forces hydrodynamiques provenant de l'environnement circulant. Cette phase est habituellement non spécifique et brève, durant approximativement 5 à 10 heures **(Gauthier et al., 1989)**.

5.2.2 Adhésion irréversible :

En temps réel, un certain nombre de cellules adsorbées de façon réversible restent fixées et passent à une adsorption irréversible (figure1,2). On a suggéré que les appendices physiques des bactéries, comme les flagelles, les fimbriae et les pilis, réussissent à dépasser les forces de répulsion de la double couche électrique. Ensuite, ces appendices interagissent avec le réseau mondial de la couche d'emballage, provoquant des réactions chimiques comme l'oxydation et l'hydratation qui renforcent ainsi la connexion entre les bactéries et la surface. Des indices suggèrent que l'adhérence microbienne est fortement influencée par les caractéristiques hydrophobes-hydrophiles des surfaces en contact **(Garrett et al., 2008)**.

5.3 Formation de micro-colonies :

Également connu sous le nom de maturation précoce. Une fois fixées de façon durable, les cellules bactériennes se développent et se divisent en exploitant les nutriments disponibles dans le film de conditionnement et le liquide environnant. Ainsi, elles constituent des micro-colonies qui se développent et finissent par se fusionner, formant une couche de cellules qui recouvre la surface. **(Mogha et al., 2014)**. Au cours de cette étape, les cellules fixées génèrent aussi un polymère additionnel (EPS) qui consolide l'accrochage des cellules à la surface et assure la stabilité de la colonie face aux fluctuations de l'environnement **(Characklis et Marshall, 1990)**. Le microenvironnement de la surface évolue à mesure que les premiers organismes colonisateurs s'attachent, se développent, se divisent et génèrent de l'EPS **(Kumar et Anand, 1998)**.

5.4 Maturation :

Sauer et ses collègues ont identifié deux étapes de maturation dans le processus de formation du biofilm : la première maturation et la seconde maturation.

5.4.1 La maturation-1 :

Se distingue par une expression accrue des gènes et correspond à la période où une différence phénotypique significative entre les cellules fixées et planctoniques est constatée. Lors de cette étape, une forte régulation positive des protéines d'arc associées aux processus anaérobies est observée, ce qui laisse supposer qu'une carence en oxygène pourrait se manifester dans certaines régions du biofilm, sans doute près du substrat **(Sauer et al., 2002)**.

5.4.2 La maturation-2 :

Démontre l'excès d'épaisseur du biofilm et représente aussi la phase pendant laquelle il existe le plus grand écart entre les protéines des cellules bactériennes sessiles et planctoniques. Les protéines identifiées lors de la phase de maturation-2 se différencient clairement de celles repérées durant la maturation-1, ce qui indique une importante régulation positive des gènes. Certains de ces gènes sont impliqués dans la formation de la matrice EPS, une structure défensive et stable que l'on retrouve au sein des communautés de biofilm **(Clutterbuck et al. 2007)**. Cette matrice renferme des molécules organiques comme les protéines et les polysaccharides, pouvant représenter entre 75% à 95% du volume d'un biofilm mature. Les EPS sont générés par la décomposition des bactéries, ainsi que par leur synthèse et sécrétion durant leur développement en biofilm **(Haras.2005)**.

5.5 Dispersion du biofilm :

Lorsque l'épaisseur maximale est atteinte, les phases finales de la formation du biofilm débutent. On se réfère à cela comme la phase de dispersion, qui implique le relâchement des cellules planctoniques du biofilm (figure 1.5) (**Clutterbuck et al., 2007**).

Au cours de sa maturation, le biofilm se caractérise par une forte capacité d'absorption des nutriments, parallèlement à une accumulation progressive de composés toxiques. Dans ce contexte, afin d'accéder à de nouvelles sources nutritives et de maintenir leur viabilité, les cellules bactériennes associées au biofilm se détachent de la surface du biomatériau et migrent vers d'autres environnements. Le processus de dispersion bactérienne s'organise généralement en trois étapes successives : dans un premier temps, les cellules se dissocient de la micro colonie ; dans un second temps, elles se déplacent vers un nouveau substrat ; enfin, elles s'y fixent, amorçant ainsi un nouveau cycle de formation du biofilm (**Li et al., 2023**).

La perte de cellules au sein d'un biofilm ne se limite pas à son stade terminal de développement ; elle peut survenir à différentes étapes de sa formation, notamment en réponse à des variations des conditions environnementales. Plusieurs mécanismes passifs peuvent être à l'origine de ce phénomène, tels que la limitation en oxygène au sein des biofilms épais, les forces de cisaillement induites par les conditions hydrodynamiques, ainsi que la réduction de la disponibilité en nutriments ou les modifications de leur composition.

Par ailleurs, la diminution de la biomasse du biofilm peut également résulter de l'action d'agents chimiques, notamment des tensioactifs, des enzymes, des composés chlorés, des agents chélateurs ou encore des variations du pH. Selon la nature de l'agent impliqué, ces facteurs peuvent induire soit une lyse cellulaire, soit un détachement des bactéries, généralement associé à un faible taux de mortalité (**Haras.2005**).

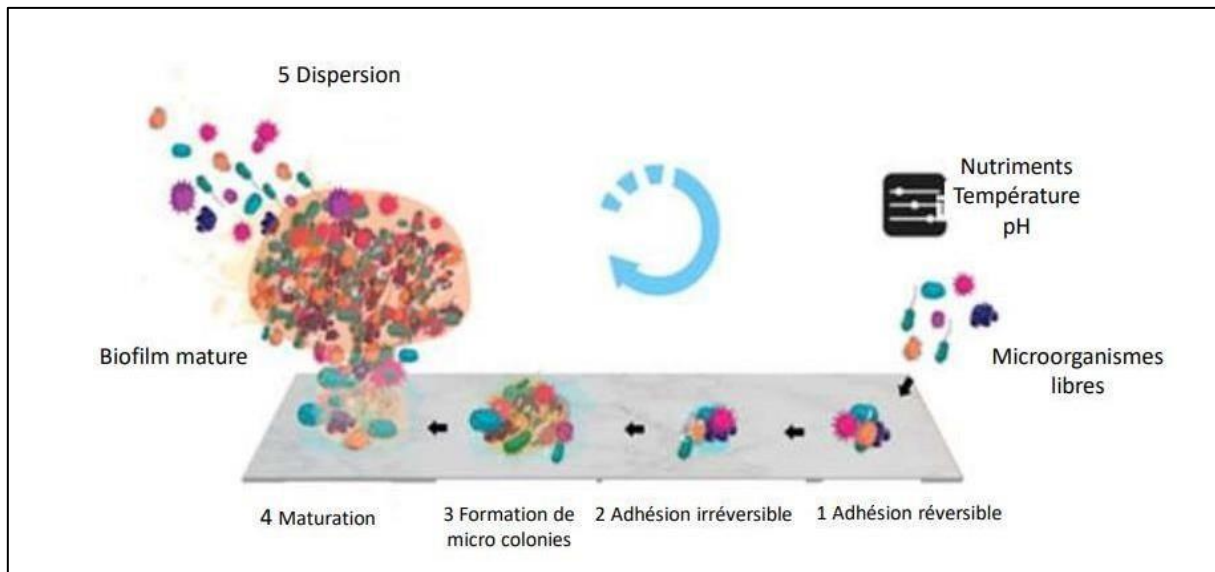


Figure 1:Etapes de formation de biofilm microbien (Zhou et al., 2022).

6. Les biofilms dans le secteur agroalimentaire (IAA)

Les biofilms microbiens sont constitués de communautés bactériennes diverses, enveloppées dans une matrice d'exopolysaccharides qu'elles produisent elles-mêmes, et adhérant généralement à des surfaces biotiques ou abiotiques. Leur présence est fortement associée à des risques d'intoxications alimentaires chez l'homme, se manifestant par des diarrhées, vomissements, entérites, douleurs abdominales et céphalées (**Galié et al., 2018 ; Giaouris et al., 2020**).

Dans l'industrie agroalimentaire, de nombreuses surfaces et équipements en contact direct avec les denrées alimentaires sont colonisés par des micro-organismes capables de former des biofilms (**Alvarez-Ord  ez et al. 2019**). Cette situation entraîne une altération de la qualité des aliments, une réduction de leur durée de conservation et une augmentation du risque d'épidémies d'origine alimentaire (**Carrascosa et al., 2021**).

Malgré les avancées scientifiques, le contrôle efficace des micro-organismes et de leurs biofilms demeure un défi nécessitant davantage de recherches (**Ali et Alsayeqh, 2020**).

7. Les biofilms en industrie laitière :

Dans le secteur de l'agroalimentaire, les bactéries pourraient avoir la capacité de se fixer et de créer des biofilms sur les surfaces des lignes de production alimentaires (**Aung et al., 2011 ;Langoni et al., 2008**). Les biofilms qui se développent sur ces dispositifs sont réputés pour

leurs conséquences néfastes sur la santé. Parmi les effets indésirables notables, on retrouve la contamination des denrées alimentaires et la biodétérioration des matériaux (notamment la biocorrosion) (**Klinger et al. 2005**).

Dans le secteur laitier, la création de biofilm peut se produire à divers endroits le long du processus de transformation du lait, avec une occurrence fréquente sur les sites qui sont compliqués à nettoyer comme les extrémités mortes, les joints, les valves, les cavités et les fissures (**Gopal et al., 2015**).

La formation du biofilm sur les appareils laitiers se produit très vite (8 à 12 heures), avec une quantité de bactéries souvent dépassant les 10^6 bactéries/cm² (**Bremer et al., 2009**).

Le danger de transmission de ces bactéries au lait circulant dans les lactoducs, ou contamination croisée, est élevé. Cela signifie que les produits laitiers transformés sont contaminés par des microbes, ce qui réduit leur sécurité et leur durée de conservation. La recolonisation des bactéries sur la surface des équipements du système de tuyauterie du lait se produit même pendant le nettoyage en place (CIP). Ce domaine met également en évidence l'apparition de la résistance des biofilms face aux traitements antimicrobiens traditionnels. (**Simoes et al., 2010 ; Shi et Zhu, 2009**).

8. Biofilms et transformation des aliments :

Il est fréquemment avancé que les micro-organismes capables d'exécuter des fonctions spécifiques à une niche écologique jouent un rôle clé dans la formation de biofilms, en réponse aux signaux environnementaux et aux composants alimentaires présents dans les milieux industriels. Ces micro-organismes sont souvent les plus persistants dans les environnements de transformation alimentaire, où ils se fixent aux surfaces et équipements (**Alvarez-Ordóñez et al., 2019**).

De nombreuses études ont évalué la formation de biofilms par des micro-organismes liés à l'alimentation, soulignant que ce processus est principalement influencé par les constituants alimentaires du milieu ainsi que par diverses conditions environnementales typiques des procédés de transformation des aliments. Par exemple, la formation de biofilms chez plusieurs bactéries peut être modulée par des glucides simples comme le glucose, qui, chez *Aeromonas hydrophila*, contrôle les molécules de quorum sensing acyl-homosérine lactone (**Jahid et al., 2013**).

D'autres recherches ont montré que le lactose du lait favorise la formation de biofilms chez *Staphylococcus aureus*, notamment en induisant la production de la protéine d'adhésion intercellulaire polysaccharidique, ainsi que chez *Bacillus subtilis*, via l'activation du système de détection du quorum médié par **(Duanis-Assaf et al., 2016)**. À l'inverse, le ribose a été identifié comme un inhibiteur de la communication intercellulaire chez *Lactobacillus paraplantarum*, un micro-organisme producteur de l'autoinducteur-2 **(Liu et al., 2017)**.

Par ailleurs, certains composants alimentaires spécifiques peuvent favoriser la formation de biofilms, tels que la leucine chez *Listeria monocytogenes* **(Skovager et al., 2013)** ou l'acide butyrique, libéré lors de la lipolyse du lait, présent chez les *Bacillus spp.* **(Pasvolksy et al., 2014)**. De plus, une étude de **(Bassi et al., 2017)** a mis en évidence que la formation de biofilms par *Streptococcus thermophilus* sur des surfaces en acier inoxydable dépend fortement de la disponibilité des protéines de lait.

Ces découvertes soulignent le rôle important des biofilms dans la transformation des aliments fermentés, en lien étroit avec les composants alimentaires et les conditions environnementales spécifiques à chaque procédé.

Plusieurs études ont exploré la capacité de divers micro-organismes à former des biofilms en présence d'extraits alimentaires. Il a notamment été démontré que *Campylobacter jejuni* développe des biofilms plus importants sur des surfaces telles que le verre, l'acier inoxydable et le polystyrène lorsque le milieu de culture est enrichi avec un exsudat de viande de poulet. Cet exsudat agit comme une source nutritive supplémentaire tout en recouvrant et en conditionnant les surfaces abiotiques, favorisant ainsi l'adhésion bactérienne **(Brown et al., 2014)**.

Plusieurs chercheurs, tels que **(Dimakopoulou-Papazoglou et al. 2016)** ; **(Iliadis et al. 2018)** ont étudiés et modélisés l'influence des différentes conditions environnementales rencontrées lors de la transformation des aliments sur la formation de biofilms. Ces travaux visent à mieux comprendre les mécanismes de formation des biofilms afin d'identifier des stratégies efficaces pour leur prévention et leur contrôle dans les environnements industriels. Certains micro-organismes possèdent une remarquable capacité à former des biofilms même dans des conditions environnementales défavorables ou hostiles, caractéristiques de certains systèmes de transformation alimentaire. Un exemple notable est celui d'*Alicyclobacillus acidoterrestris*, qui peut développer des biofilms dans des milieux où le pH est très acide. **(Iliadis et al. 2018)**.

Matériel et méthodes

1. Origine des souches :

Cette recherche se base sur des isolats provenant d'une collection de souches bactériennes prélevées dans les canalisations du lait cru de vache, issues de la laiterie d'Ain Defla, située au nord de l'Algérie. Cette collection a été conservée à une température de -20°C dans un bouillon nutritif enrichi de 25% de glycérol (v/v). Ils sont identifiés à partir des codes suivants :

1 pré LR.AV SF1 / 1 pré LR.APSF1/1 pré LR.APSF2/1 pré LR.AVSF3/1préLR AP SF3/1 pré LR.AP SF 5/1 pré LR.APSF5'

2. Revivification et vérification de la pureté des souches :

La revivification des sept souches lyophilisées a été effectuée tout d'abord dans le milieu Bouillon cœur-cerveille (BHIB) et incubées à 37°C pendant 72h.

Après incubation, les souches ont été ensemencées dans la gélose Plate Count Agar (PCA) et incubées à 37°C pendant 72h.

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose PCA, jusqu'à l'obtention des colonies de même taille, même forme et même couleur renseignent sur la pureté des souches.

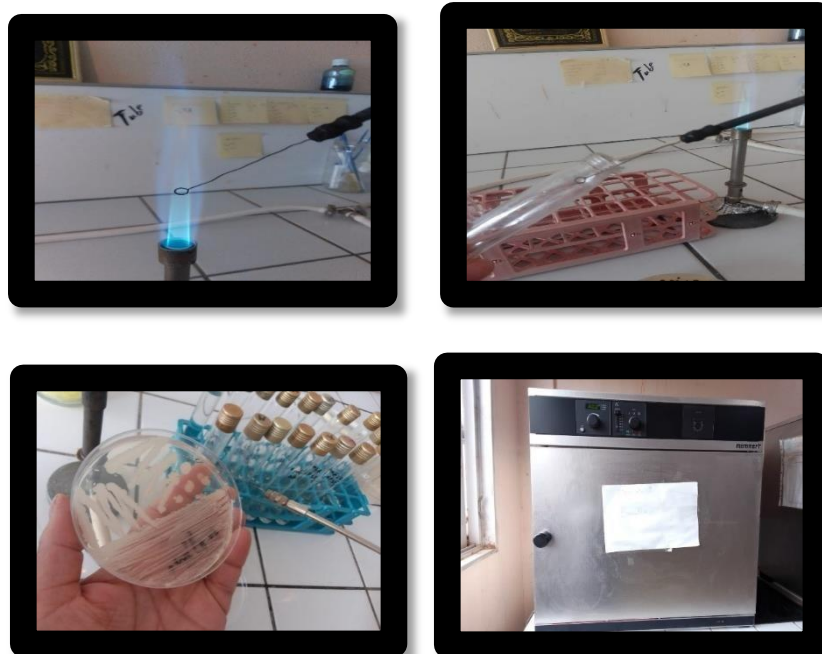


Figure 2: Les étapes de la revivification des souches (photos personnelles.2026).

3. Caractérisation phénotypique des isolats

Après vérification de leur pureté, les souches passent par une procédure d'identification.

3.1 Caractères macroscopiques :

Les caractéristiques microbiologiques des isolats (dimension, format, couleur, transparence, relief, texture et hauteur des colonies) ont été définies après une incubation de 24 heures à une température de 30°C sur de la Gélose PCA

3.2 Caractères microscopiques :

Après une incubation de 24 heures à 30°C sur gélose PCA, les caractères microscopiques des isolats ont été identifiés.

- Suite à une coloration de Gram, nous avons identifié la morphologie, la structure cellulaire et le type de paroi. On effectue les observations grâce à un microscope photonique avec un objectif 100 en immersion.
- On a étudié la mobilité en examinant des cellules vivantes à l'aide d'un microscope photonique équipé d'un objectif 40, en les observant entre une lame et une lamelle.

4. Hydrophobicité des souches :

Les souches bactériennes ont été cultivées à 37 °C pendant 48 h, puis les cellules ont été récoltées, lavées avec une solution de PBS et remises en suspension dans le même tampon (10 mM, pH 7,4). La densité cellulaire de la suspension a été ajustée à une absorbance de $0,8 \pm 0,05$ à DO570, qui a été enregistrée comme DO₀.

Ensuite, 4 ml de la suspension cellulaire a été mélangé à 1 ml d'Héxane, puis le mélange a été vigoureusement agité au vortex pendant 120 s. Les échantillons ont été laissés au repos à température ambiante pendant 30 min afin de permettre la séparation des phases aqueuse et organique.

La phase aqueuse inférieure a été récupérée, et l'absorbance a été mesurée à 570 nm (DO₁). L'hydrophobicité de la surface cellulaire (CSH) a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{CSH (\%)} = [(\text{OD}_0 - \text{OD}_1) / \text{OD}_0] \times 100$$

Les souches étudiées ont été classées comme suit : hautement hydrophobes, pour des valeurs >50% ; modérément hydrophobes, pour des valeurs comprises entre 20 et 50% et hydrophiles, pour des valeurs <20%. Toutes les expériences ont été réalisées en trois exemplaires et répétées en deux séries indépendantes. (Di Cicco et al., 2022).



Figure 3: Les étapes de l'hydrophobicité de la surface cellulaire (CSH)

4. Capacité à former un biofilm en acier inoxydable :

On a employé des coupons en acier inoxydable (15x 45 mm, catégorie AISI 316 L) comme surfaces à tester, et ceux-ci ont été nettoyés. Le film de conditionnement a été obtenu en plaçant l'acier inoxydable nettoyé horizontalement dans un tube contenant 5 ml de lait écrémé. Les coupons ont par la suite été ôtés et rincés à trois reprises à l'aide d'eau distillée. Par la suite, chaque coupon a été immergé de manière individuelle dans des tubes renfermant une culture bactérienne d'une densité optique variant entre 0,08 et 0,1 de la souche testée. Chaque coupon a par la suite été incubé à 37 °C pendant 24 heures, avant d'être extrait à l'aide de pinces stériles. Les cellules non adhérentes ont été retirées en rinçant le coupon trois fois à l'aide de l'eau physiologique. Le coupon a été débarrassé des cellules adhérentes à l'aide d'un écouvillon imbibé d'une solution de tween80, comme l'indiquent **(Kruszewski et al., 2013)**. On vortex ce dernier pendant une minute pour déloger les micro-organismes et constituer la solution mère qui a par la suite servi à réaliser d'autres dilutions décimales **(Faïlle et al., 2013)**. Les dilutions ont été inoculées sur PCA et mises en incubation pour une durée de 24 heures. Trois exemplaires ont été utilisés pour effectuer les tests.



Les tube contenant l'acier
Inoxydable et 5 ml du lait



Mesure de la Do



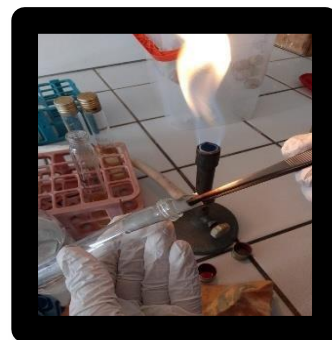
la Do entre 0.08 et 0.1



Tube après l'incubation
Pendant 1h



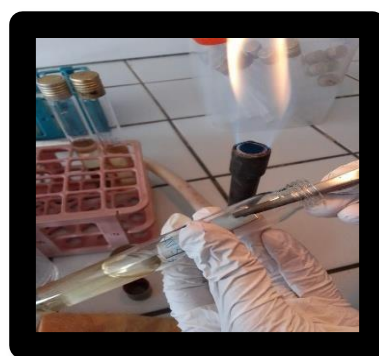
Elimination du lait



Retirer les coupons
d'acier inoxydable



Rinçage par l'eau
Stérile



Mettre les coupons dans la
suspension bactérienne

Figure 4: Les étapes de formation de biofilm en acier inoxydable



Elimination de la suspension
Bactérienne



Retirer les coupons



Rinçage par l'eau
physiologique



Ecuvillon imbibé dans une
Solution tween 80



Gratter les coupons



Vortex pendant 1 min



Réaliser les dilutions en série



Ensemencement des boites avec la gélose
PCA après les incubé 24 H à 37°C

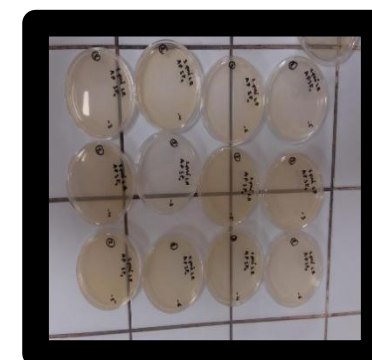
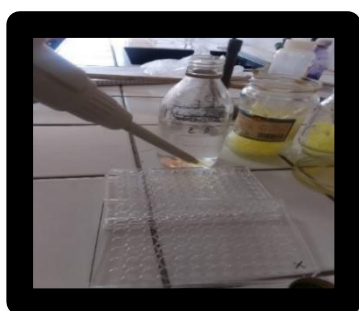


Figure 5: Les étapes de dénombrement des bactéries adhérentes (Photos personnelles 2026).

5. Formation de biofilm sur microplaque de titration :

Suivant le procédé établi par (Stepanovic et al.2007), quelques modifications mineures ont été effectuées pour examiner la formation de biofilms en utilisant des plaques de microtitration à 96 puits.

Pour faire court, les isolats ont été cultivés à 37°C dans un bouillon BHIB-2% de glucose. Les plaques de microtitration sont faites de polystyrène et compte 96 cuves en forme de U, où les bactéries adhèrent et forment un biofilm.



Rinçage avec PBS



Fixation avec méthanol



Coloration au cristal violet



Rinçage avec l'eau distillée



L'ajout de l'acide acétique



lecture de la DO

Figure 6: Les étapes de formation des biofilms sur microplaque de titration

Procédure :

On a prélevé sept souches de notre collection à partir de cultures récentes de PCA, puis on les a transférées dans 5 ml de BHIB enrichi de 2% de glucose et incubées à 37°C pendant une durée de 24 heures. Des suspensions cultivées ont été diluées avec du BHIB-2% glucose afin de produire un inoculum normalisé de 0,5 McFarland. Des plaques de microtitration aseptisées ont été préparées en remplissant leurs alvéoles avec 100µL de suspension bactérienne, puis en ajoutant 100µL de BHIB -2% glucose fraîche à chaque puits. La colonne 12 a été utilisée comme contrôle négatif, à laquelle 200µL de BHIB-2% glucose ont été incorporés. Chaque isolat a été inoculé trois fois. On a ensuite incubé les plaques de microtitration à 37°C ; ce processus a été répété trois fois afin de mesurer la formation du biofilm après 24 heures d'incubation.

Suite à l'incubation, le contenu des puits a été éliminé et ceux-ci ont été rincés trois fois avec une solution saline stérile à phosphate tamponné (PBS pH= 7,4) afin d'expulser toute cellule non adhérente. Les plaques de microtitration ont été égouttées en position inversée à température ambiante. Une couche de biofilm fixée créée dans chaque puits des plaques de microtitration a été teintée avec 150µl de cristal violet à 0,1 % pendant une durée de 15 minutes. Suite à la coloration, le contenu des puits a été soigneusement extrait et ceux-ci ont fait l'objet de trois lavages à l'eau distillée stérile dans le but d'éliminer tout excès de colorant. Par la suite, les plaques de microtitration ont été mises à sécher à température ambiante. Pour dissoudre le cristal violet, chaque puits a reçu 150µl d'acide acétique glacial à 33 %, puis ils ont été laissés sans remuer pendant 15 minutes. Pour finir, la densité optique des puits a été évaluée à 570 nm en utilisant un lecteur de microplaques (ELISA ELx800 Reader BioTek).

7. Identification par Galerie API 20 E :

Principe et technique :

L'API 20E est un système d'identification élaboré pour reconnaître les entérobactéries ainsi que d'autres bacilles à Gram négatif qui se développent aisément. Il se base sur une collection de 20 micro-tubes remplis de substrats déshydratés. On inocule ces micro-tubes avec une suspension de bactéries pour examiner diverses réactions biochimiques (**Koumba. 2007**).

Préparation de la galerie (figure..).

Il faut assembler le fond et le couvercle de la boîte d'incubation, puis distribuer 5 ml d'eau distillée stérile dans les alvéoles afin de conserver un environnement humide.

Inscrivez le numéro de référence de la souche sur l'étiquette latérale de la boîte.

Retirer la galerie de son emballage.

Placez la galerie de manière aseptisée dans le récipient d'incubation (**Debabza.2014**).

Préparation de l'inoculum.

Élaborer une suspension bactérienne concentrée dans 10 ml d'eau physiologique stérile, à partir d'une culture pure et jeune âgée de 18 à 24 heures sur le milieu GN.

Ensemencement de la galerie API 20E.

- Utilisez une pipette Pasteur stérile pour introduire la suspension bactérienne dans chaque tube, en vous assurant de presser la pointe contre le bord interne du tube afin d'éviter la création de bulles d'air.

- Pour les tests en question (ADH, LDC, ODC, H₂S, URE), il faut inoculer le tubule avec la suspension et remplir la coupelle d'huile de vaseline stérile.

- Pour les tests supervisés (VP, CIT, GEL), il est nécessaire d'ensemencer simultanément le tubule et la cupule avec la suspension.

- Pour les tests qui ne sont pas supervisés et sans indication, il suffit de remplir le tube avec la suspension.

- Il faut fermer la boîte d'incubation et la maintenir à une température de 37°C pendant une durée comprise entre 18 et 24 heures.

Examen de la galerie Après incubation, l'interprétation des résultats se réalise en se basant sur le tableau d'interprétation. (Consulter l'annexe)

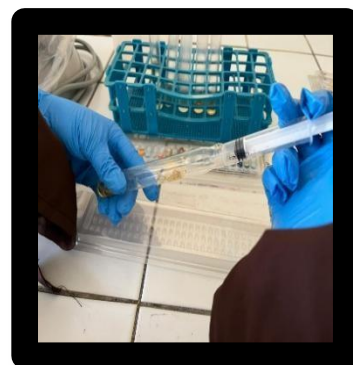
- Ajouter les réactifs nécessaires pour révéler certains tests :
 - Tryptophane désaminase TDA : Incorporer une goutte de réactif TDA. Une teinte brun-rouge signale une réaction positive à mentionner sur la fiche de résultats.
 - Test de l'indole IND : une couleur rouge se forme à la surface, indiquant la production d'indole à partir du tryptophane.
 - Test de Voges-Prockauer VP : Identifie l'acétoïne, une teinte rouge signale une réaction positive.



Préparation de la galerie



Préparation de la suspension



Prélèvement d'un tube

Bactérienne



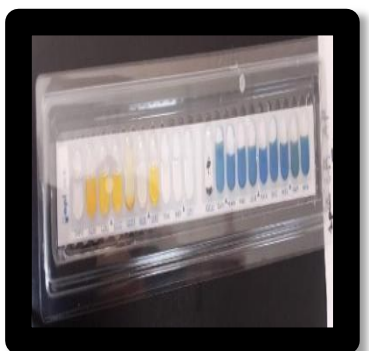
Inoculé les micro tube



Remplir les cupules de l'huile
de paraffine



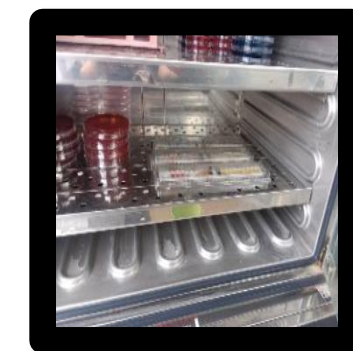
Remplir les alvéoles avec
l'eau distillée



Mettre la galerie dans la boîte



La galerie API20E après
ensemencement



Incubation 24h à 37°C

Figure 7: les étapes de l'identification par Galerie API 20 E (photos personnel 2026)

- Après 24h d'incubation ajouter les réactifs suivants :
TDA, IND, VP1, VP2

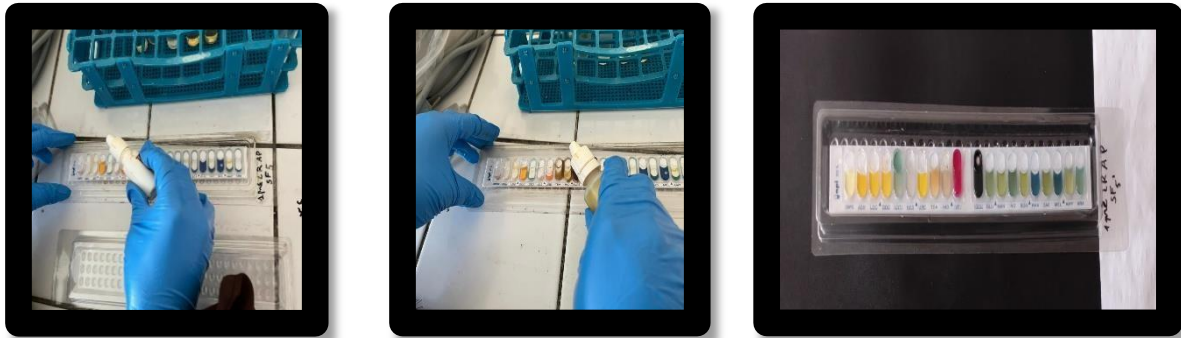


Figure 8:l'ajout des réactifs (photos personnel 2026)

Résultats et discussion

1. Identification des souches isolées :

Le but de cette recherche était d'évaluer la diversité microbienne attachée aux surfaces en acier inoxydable dans une laiterie.

1.1 Aspect macroscopique (Morphotypes) des isolats :

Suite à une incubation de 24 heures à 37°C, les colonies prélevées des surfaces des canalisations d'une entreprise laitière présente des caractéristiques macroscopiques diverses. (Voir tableau 2, et figure 9)

Tableau 2: Résultats de l'observation macroscopique.

Les souches	La forme	Le relief	Le contour	La taille	La surface
1 pré L.R/A.V SF1	Ronde	Bombé	Régulier	Colonie Moyenne (3mm)	Lisse
1 pré L.R/A.P SF1	Ronde	Bombé	Régulier	Colonie Moyenne (3mm)	Lisse
1 pré L.R/A.P SF2	Irrégulière	Plate	Irrégulier	Grosse colonie (5mm)	Rugueuse
1 pré L.R/A.V SF3	Ronde	Bombé	Régulier	Petite colonie (1mm)	Lisse
1 pré L.R/A.P SF3	Irrégulière	Plate	Irrégulier	Colonie Moyenne (3mm)	Rugueuse
1 pré L.R/A.P SF5	Ronde	Bombé	Régulier	Colonie Moyenne (3mm)	Lisse
1 pré L.R/A.P SF5'	Irrégulière	Plate	Irrégulier	Colonie Moyenne (3mm)	Rugueuse

LR : lait recombinaison, AV : avant pasteurisation, AP : après pasteurisation, SF : saison froide.



1 pré LR AP SF 5

1pré LR AP SF 5'

Figure 9: L'aspect macroscopique des isolats

L'étude de colonies isolées a montré une diversité morphologique notable. Cette différence à grande échelle suggère sans aucun doute l'existence de divers genres ou espèces bactériennes, témoignant ainsi de la diversité microbienne. Dans le domaine de l'agro-alimentaire, les surfaces et matériels qui sont en contact avec les aliments, sont souvent exposés à la contamination par des micro-organismes susceptibles de créer des biofilms (**Alvarez et al., 2019**).

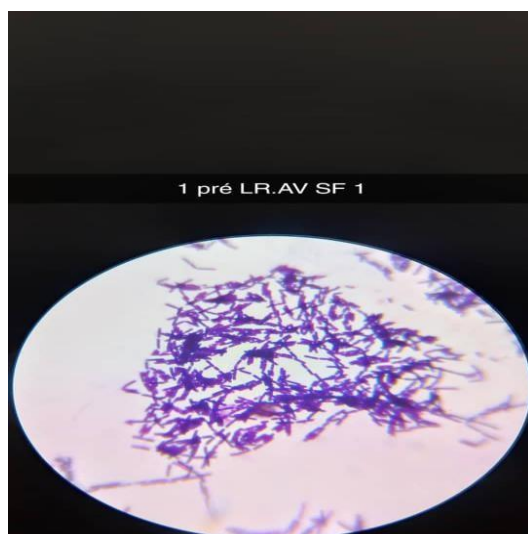
1.2. Aspect microscopique des isolats :

Après une incubation de 24 heures à 37°C sur Gélose Nutritive, les caractéristiques microscopiques des isolats ont été établies.

L'examen à l'état frais a révélé le caractère mobile des isolats. L'observation microscopique suite à une coloration de Gram a indiqué que les isolats comportent une configuration propre aux bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

Tableau 3: Résultats de coloration de Gram des isolats.

Les souches	Résultat
1 pré L.R/A.V SF1	Cocci +
1 pré L.R/A.P SF1	Bacille -
1 pré L.R/A.P SF2	Cocci +
1 pré L.R/A.VSF3	Bacille -
1 pré L.R/A.P SF3	Bacille -
1pré LR/A.P SF5	Cocci +
1pré LR/A.P SF5'	Cocci +



Gram +



Gram -

Figure 10: Observation microscopique des isolats après coloration de Gram.

2. Hydrophobicité des souches :

La capacité des bactéries à adhérer aux surfaces inertes, à créer des biofilms et est largement déterminée par leur hydrophobicité de surface. Cette caractéristique a été estimée chez cinq souches bactériennes en utilisant le test MATH.

Tableau 4: Résultats de la technique MATH (Microbial Adhésion To Hydrocarbon)

La souche	Hydrophobicité	Interprétation
1 Pré LR AVSF1	29,4%	Hydrophobicité modérée
1 Pré LR APSF1	47 ,3%	Hydrophobicité modérée
1 Pré LR APSF2	14 ,6%	Hydrophobicité faible
1 Pré LR AVSF3	22,6%	Hydrophobicité modérée
1 Pré LR APSF5'	47,4%	Hydrophobicité modérée

L'hydrophobie de la superficie cellulaire (CSH) est déterminante dans l'adhésion des micro-organismes, en facilitant les interactions hydrophobiques entre les cellules et les surfaces biologiques ou non biologiques (**Donlan et al., 2002 ; Mizan, et al., 2016 ; Angiolella et al.,2018**). En ce qui concerne les surfaces hydrophiles, telles que le verre ou les métaux (acier inoxydable), les cellules bactériennes ont une tendance à se fixer plus rapidement sur les surfaces hydrophobes et non polaires (plastiques).

Les résultats obtenus montrent que les valeurs d'hydrophobicité des souches étudiées varient de 14,6 % à 47,4 %. On a noté les taux les plus hauts chez les souches 1 pré LR AP SF5' (47,4 %) et 1 pré LR AP SF1 (47,3 %), alors que la souche 1 pré LR AP SF2 a affiché le plus bas (14,6 %).

Ces résultats peuvent être mis en parallèle avec ceux de (**Furuhata et al., 2009**), qui ont fait état d'une grande variabilité de l'hydrophobicité parmi les bactéries prélevées à partir de biofilms environnementaux. Selon les souches examinées, les auteurs ont rapporté des valeurs allant de 0,001 à 0,358, révélant que l'hydrophobicité est une propriété fortement liée à la souche

bactérienne. Ils ont aussi démontré que certaines souches, ayant les indices d'hydrophobicité les plus grands, se distinguaient par une capacité supérieure à l'adhésion sur les surfaces.

Aussi, l'étude de **(Ukuku et Fett 2002)** a indiqué un lien positif entre l'hydrophobicité cellulaire et la puissance de liaison des bactéries aux surfaces. Selon les auteurs, les souches les plus hydrophobes ont montré les niveaux d'attachement les plus élevés, conduisant à la conclusion qu'il existe une corrélation linéaire entre l'hydrophobicité de surface et l'adhésion bactérienne.

Dans l'ensemble, la variabilité observée entre les souches étudiées est en accord avec les données rapportées par **(Krasowska et Sigler 2014)**. Par ailleurs, les valeurs d'hydrophobicité relativement élevées enregistrées chez certaines souches suggèrent une aptitude accrue à l'adhésion aux surfaces, ce qui concorde avec les observations de **(Choi et al., 2013)**, qui ont mis en évidence le rôle de l'hydrophobicité cellulaire dans le renforcement de l'attachement bactérien.

3. Capacité des souches à former un biofilm sur des surfaces en acier inoxydable :

Les résultats concernant le nombre de bactéries adhérees à l'acier inoxydable sont illustrés dans le tableau 5.

Tableau 5: Résultats de nombre de bactéries adhérees à l'acier inoxydable

Les souches	Nombre des souches adhérees (Log 10)
1 pré L.R/A.V SF1	5,87
1 pré L.R/A.P SF1	5,10
1 pré L.R/A.P SF2	5,60
1 pré L.R/A.V SF3	7,32
1 pré L.R/A.P SF3	7,49
1 pré L.R/A.P SF5	7 ,25
1 pré L.R/A.P SF5'	6,48

Les résultats indiquent que les échantillons présents dans notre collection possèdent une capacité d'adhésion aux surfaces en acier inoxydable allant de $5,10 \log_{10}$ à $7,49 \log_{10}$. Cette variation est attribuée à plusieurs facteurs.

Pour former des biofilms, les bactéries viables et non viables se fixent de façon réversible et irréversible sur les surfaces et génèrent des substances polymères extracellulaires pour assurer leur protection **(Donlan et Costerton, 2002)**. De ce fait, il est courant que les bactéries contenues dans le lait créent des biofilms à l'intérieur des canalisations de l'industrie laitière **(Marchand et al., 2012)**. Il a été établi que les propriétés de surface de l'acier inoxydable peuvent se modifier suite à un traitement au lait écrémé, formant une couche protéique sur l'acier, susceptible d'affecter l'adhérence des bactéries **(Hamadi et al., 2014)**. Ainsi, l'établissement de biofilms bactériens lors du passage du lait dans les conduits peut avoir un impact négatif sur la qualité et la sécurité du lait et de ses dérivés. **(Austin et Bergeron, 1995)** Ainsi, l'accroche des bactéries sur les surfaces en acier représente une question de préoccupation majeure pour l'industrie laitière.

L'accroissement de l'adhérence bactérienne et l'établissement d'un environnement favorable à la constitution de biofilms dépendent des propriétés de l'acier inoxydable (énergie de surface, hydrophobicité, rugosité superficielle, topologie), des sortes de ingrédients premières alimentaires employés et des conditions prédéterminées pour leur préparation **(Dulaet al., 2021)**.

Comme indiqué par **(Finton et al., 2024)** la plupart des bactéries sporulées sont connues comme des agents de décomposition qui produisent des enzymes extracellulaires, ce qui conduit à la dégradation de la qualité du lait. Ces données concordent bien avec nos observations.

Les souches 1 pré L.R/A.P SF3 ($7,49 \log_{10}$), 1 pré L.R/A.V SF3 ($7,33 \log_{10}$) et 1 pré L.R/A.P SF5 ($7,25 \log_{10}$) présentent les valeurs d'adhésion les plus élevées, témoignant d'une forte aptitude à l'interaction avec la surface. Ces observations concordent les résultats rapportés par **(Nair et al., 2016)**, qui ont mis en évidence que l'adhésion bactérienne constitue une caractéristique qui peut atteindre des niveaux élevés chez certains isolats.

Le nombres de cellules récupérées à partir de biofilms en acier inoxydable et entre $3,52$ et $6,92 \log_{10}$, la quantité maximale relevée étant pour *Enterococcus casseliflavus* **(Didouh et al., 2023)**. Cela indique que les mécanismes d'adhésion fondamentaux des souches de notre collection ne ressemblent pas à ceux qui ont été précédemment analysés. La variabilité

constatée dans nos résultats de (5,10 log₁₀ à 7,49 Log₁₀) est même un peu plus large que celle de la référence mentionnée (de 3,52 à 6,92 Log₁₀).

Selon **(Sinnelä et al., 2021)** la pasteurisation du lait n'est pas efficace contre *Bacillus cereus*, en raison de la résistance thermique élevée de ses endospores. Ce qui est en accord avec nos résultats. Une fois traitées, ces spores sont susceptibles de germer, ce qui stimule la multiplication des bactéries et la création d'enzymes, incriminant la qualité du lait pasteurisé **(Gopal et al., 2015)**. Selon **(Malek.2019)**, les groupes les plus fréquents de bactéries sporulées sont ceux qui appartiennent au genre *Bacillus* et à des groupes apparenté.

Bacillus cereus est responsable de la formation de biofilms sur les surfaces en contact avec les aliments, comme les tuyaux en acier inoxydable ou les réservoirs de stockage. Il est également capable de créer des biofilms suspendus ou immergés, qui peuvent sécréter une multitude de bactériocines, de métabolites, et d'enzymes, comme les protéases et les lipases.

Ces composés peuvent modifier les caractéristiques sensorielles des produits alimentaires **(Grigore et al.,2019)**.

Globalement, ces résultats confirment que l'adhésion bactérienne est un phénomène complexe, fortement influencé par les caractéristiques propres à chaque souche. Les résultats obtenues s'inscrivent ainsi en cohérence avec les travaux de **(Nair et al.2016)**, **(Dennis et al.2011)**, **(Rumbaugh et al.2014)** et **(Liu et al;2020)**, soulignant le rôle déterminant de la diversité et la capacité des bactéries à adhérer aux surfaces.

De ce fait, diverses méthodes ont été mises en œuvre pour supprimer, empêcher ou retarder la création de biofilm de *Bacillus* dans le secteur laitier, mais restent globalement infructueuses. L'ignorance concernant la structure et le comportement du biofilm de *Bacillus* dans des conditions spécifiques aux environnements laitiers pourrait en partie expliquer cette situation **(Shemesh et Ostrov, 2020)**.

4. Résultats de la technique TCP (Tissue Culture Plate) :

Plusieurs méthodes ont été élaborées pour le développement et l'évaluation des biofilms, y compris la technique du tube (TM), la plaque de culture cellulaire (TCP) et la gélose rouge Congo (CRA) **(Christensen et al., 1985)**. L'une des techniques les plus courantes pour l'étude de la formation des biofilms est la méthode de micro-titration en plaques. De nombreuses

modifications ont été mises au point pour la culture in vitro et la quantification des biofilms bactériens (**Stepanovic et al., 2007**). Les résultats de la formation de biofilm sur les microplaques de titration sont illustrés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6:Résultats de la technique TCP

La souche	DO 570 :	Intensité :
1pré LR AV SF1	0,288	modérément formatrice de biofilm (+++)
1pré LR AP SF1	0,247	modérément formatrice de biofilm (+++)
1pré LR AP SF2	1,865	Fort producteur de biofilm (+++)
1pré LR AV SF3	0,301	modérément formatrice de biofilm (+++)
1pré LR AP SF3	1,147	Fort producteur de biofilm (+++)
1pré LR AP SF5	1,979	Fort producteur de biofilm (+++)
1pré LR AP SF5'	2,162	Fort producteur de biofilm (+++)

L'analyse des valeurs de densité optique obtenues par la méthode de microplaque de titration a révélé une variabilité dans la capacité de formation de biofilm des souches étudiées. Les souches 1 pré LR AP SF 2, 1 pré LR AP SF 3, 1 pré LR AP SF 5 et 1 pré LR AP SF 5' ont été classées comme fortes productrices de biofilm, tandis que les souches 1 pré LR AP SF 1, 1 pré LR AV SF 1 et 1 pré LR AV SF 3 ont présenté une capacité modérée de formation de biofilm.

Ces résultats se distinguent de ceux rapportés par (**Didouh et al.2016**), qui ont observé une prédominance des souches faiblement productrices ou non productrices de biofilm parmi les isolats issus d'une industrie laitière. En effet, seulement 3,64 % des souches étudiées par ces auteurs ont été classées comme fortement productrices de biofilm, contre 57,14 % dans notre étude. Cette différence met en évidence une aptitude plus marquée des souches analysées à adhérer aux surfaces et à produire une matrice extracellulaire.

La forte proportion de souches hautement productrices de biofilm observée dans notre travail pourrait être attribuée à des différences liées à l'origine des isolats, à leurs caractéristiques physiologiques et génétiques, ainsi qu'aux conditions environnementales auxquelles elles ont

été exposées. Ces facteurs sont susceptibles d'influencer significativement les mécanismes d'adhésion et le développement du biofilm.

5. Résultats de galerie API 20E :

Les biotypes suivants ont été obtenus après incubation à partir des résultats de galerie API 20E : la souche LR.AV.SF3 (3226732), la souche LR.AP.SF1 (6122002), La souche L.R.AV.SF1(2300000) , la souche LR.AP.SF2 (6323473), la souche LR.AP.SF3 (3223000), la souche LR.AP.SF5 (2102022) et la souche LR.AP.SF5' (1623000). La Figure 11 et le Tableau 7 présentent le résultat de la galerie API 20E

Tableau 7:le résultat de la galerie API 20E

Les souches	Les biotypes	Germe et espace
1 pré L.R/A.V SF1	2300000	Non identifie
1 pré L.R/A.P SF1	6122002	<i>Bacillus cereus</i>
1 pré L.R/A.P SF2	6323473	<i>Bacillus cereus</i>
1 pré L.R/A.V SF3	3226732	Non identifie
1 pré L.R/A.P SF3	3223000	Non identifie
1 pré L.R/A.P SF5	2102022	<i>Bacillus cereus</i>
1 pré L.R/A.P SF5'	1623000	Non identifie

Nos résultats rejoignent celles des recherches effectuées par **(Didouh et al., 2015)** qui a démontré que l'analyse biochimique des isolats de *B. cereus* à l'aide des galeries Api 20E a mis en évidence trois profils numériques partageant les caractéristiques communes suivantes : l'absence de β -galactosidase, de *Lysine décarboxylase*, d'*Ornithose décarboxylase*, d'*urase* et de *Tryptophane désaminase*. *B. cereus* ne se sert pas du citrate en tant que source de carbone, ne génèrent ni le sulfure d'hydrogène ni l'indole, et ne produisent pas de l'acétoin. Et ne fermentent pas le mannitol, l'inositol, le sorbitol, le rhamnose, le melibiose et l'arabinose **(Didouh et al., 2015)**.

Conclusion

Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'influence de l'hydrophobicité des souches bactériennes isolées de l'industrie laitière sur leur pouvoir de formation de biofilm.

L'évaluation de l'hydrophobicité des souches étudiées a révélé une variabilité importante de leurs propriétés de surface. Certaines souches ont présenté un caractère fortement hydrophobe, suggérant une plus grande aptitude à interagir avec les surfaces abiotiques. Ces résultats confirment que l'hydrophobicité constitue un facteur important dans les phénomènes d'adhésion bactérienne.

L'étude de la formation du biofilm sur des coupons en acier inoxydable a montré que plusieurs souches étaient capables de coloniser efficacement cette surface et d'y former des biofilms. Cette capacité représente un risque potentiel dans l'industrie laitière, où l'acier inoxydable est largement utilisé dans les équipements de production et de transformation.

Les essais réalisés sur microplaque de titration ont permis de mettre en évidence différents niveaux de production de biofilm selon les souches étudiées. Ainsi, des souches faiblement, moyennement et fortement productrices de biofilm ont été observées, traduisant une diversité de comportement vis-à-vis de la formation de communautés bactériennes adhérentes.

L'identification biochimique des isolats à l'aide de la galerie API 20E a permis de caractériser les souches bactériennes étudiées et de confirmer leur appartenance à différents groupes bactériens rencontrés dans l'environnement laitier.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus suggèrent l'existence d'une relation entre les propriétés hydrophobes des souches bactériennes et leur capacité à adhérer aux surfaces et à former des biofilms. Toutefois, la formation du biofilm demeure un phénomène complexe faisant intervenir plusieurs facteurs physiologiques, génétiques et environnementaux.

En conclusion, cette étude contribue à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la persistance des bactéries au sein de l'environnement laitier. Ces connaissances sont essentielles pour l'élaboration de stratégies de nettoyage et de désinfection plus efficaces visant à limiter la contamination microbienne des équipements et à garantir la qualité ainsi que la sécurité sanitaire des produits laitiers.

Les recherches à venir pourraient se concentrer sur l'identification génétique des souches formant des biofilms et l'expérimentation de nouvelles techniques de nettoyage plus performantes , et étendre cette étude à d'autres sites de production contribuerait à une meilleure compréhension et prévention des contaminations microbiennes.

Références bibliographiques

- Ali, A., & Alsayeqh, A. F. (2020). *Biofilm formation and control in food processing facilities*. *Foods*, 9(10), 1418.
- Alvarez-Ordóñez, A., Coughlan, L. M., Briandet, R., & Cotter, P. D. (2019). *Biofilms in food processing environments: Challenges and opportunities*. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 173–195.
- Alvarez-Ordóñez, A., Coughlan, L. M., Briandet, R., & Cotter, P. D. (2019). *Biofilms in food processing environments: Challenges and opportunities*. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 173–195.
- Alvarez-Ordóñez, A., Coughlan, L. M., Briandet, R., & Cotter, P. D. (2019). *Biofilms in food processing environments: Challenges and opportunities*. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 173–195.
- Aung, K. T., Matern, Y., & Danyluk, M. D. (2011). *Biofilm formation of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 and their resistance to sanitizers in the food industry*. *Food Control*, 22(8), 1335–1341.
- Austin, J. W., & Bergeron, G. (1995). *Development of bacterial biofilms in dairy processing lines*. *Journal of Dairy Research*, 62(3), 509–519.
- Bassi, D., Cappa, F., Gazzola, S., Orrù, L., & Cocconcelli, P. S. (2017). *Biofilm formation on stainless steel by Streptococcus thermophilus UC8547 in milk environments is mediated by the proteinase PrtS*. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(8), e02840-16.
- Bellifa, S. (2014). *Évaluation 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, Algérie.
- Bos, R., van der Mei, H. C., Gold, J., & Busscher, H. J. (2000). *Retention of bacteria on a substratum surface with micro-patterned hydrophobicity*. *FEMS Microbiology Letters*, 189(2), 311–315.
- Bremer, P. J., Fillery, S., & McQuillan, A. J. (2009). *Laboratory scale clean-in-place (CIP) studies on the effectiveness of detergents against dairy biofilms*. *International Journal of Food Microbiology*, 128(3), 509–515.
- Brown, M. R. W., Allison, D. G., & Gilbert, P. (2014). *Resistance of bacterial biofilms to antibiotics and biocides*. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), 561–566.

- Camargo, A. C., Woodward, J. J., Call, D. R., & Nero, L. A. (2017). *Listeria monocytogenes in food-processing facilities, food contamination, and human listeriosis: The Brazilian scenario*. Foodborne Pathogens and Disease, 14(11), 623–636.
- Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021). *Microbial biofilms in the food industry: A comprehensive review*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(4), 2014.
- Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021). *Microbial biofilms in the food industry: A comprehensive review*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(4), 2014.
- Characklis, W. G., & Marshall, K. C. (Eds.). (1990). *Biofilms*. New York, NY: John Wiley & Sons.
- Choi, N. Y., Kim, B. R., Bae, Y. M., & Lee, S. Y. (2013). *Biofilm formation, attachment, and cell hydrophobicity of foodborne pathogens under varied environmental conditions*. Applied Biological Chemistry, 56(2), 207–220.
- Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., & Beachey, E. H. (1985). *Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices*. Journal of Clinical Microbiology, 22(6), 996–1006.
- Clutterbuck, A. L., Woods, E. J., Knottenbelt, D. C., Clegg, P. D., Cochrane, C. A., & Percival, S. L. (2007). *Biofilms and their relevance to veterinary medicine*. Veterinary Microbiology, 121(1–2), 1–17.
- Daniel, R., et al. (2004). *Bacterial adhesion mechanisms on hydrophobic and hydrophilic surfaces: influence of physicochemical properties*.
- Debabza, M. (2014). *Méthodes d'isolement, de purification et d'identification des bactéries en microbiologie*. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- Di Ciccio, P. A., Fratamico, P. M., & Yan, X. (2022). *Impact of biofilms in food safety and food processing environments*. Annual Review of Food Science and Technology, 14, 451–474.
- Didouh, N., Cherif-Anntar, A., Boudjemaa, B. M., & Medjahdi, K. (2016). *Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant*. Dairy Science & Technology, 96(1), 27–38.

- Didouh, N., Cherif-Anntar, A., Boudjemaa, M. M., Medjahdi, K., Mayo, B., & Flórez, A. B. (2015). *Microflora of biofilms on Algerian dairy processing lines: An approach to improve microbial quality of pasteurized milk*.
- Didouh, N., Medjahdi, K., Campos, C., Sampaio-Maia, B., Boumedjemaa, M., & Araújo, R. (2023). *Assessment of biofilm, enzyme production and antibiotic susceptibility of bacteria from milk pre- and post-pasteurization pipelines in Algeria*. *International Journal of Food Microbiology*, 407, 110389.
- Dimakopoulou-Papazoglou, D., Gkouva, A., & Papageorgiou, G. (2016). *Biofilm formation in food industry environments: A review on microbial adhesion and control strategies*. *Journal of Food Safety*, 36(3), 295–305.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). *Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms*. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167–193.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). *Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms*. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167–193.
- Duanis-Assaf, D., Steinberg, D., Chai, Y., & Shemesh, M. (2016). *The LuxS based quorum sensing governs lactose induced biofilm formation by Bacillus subtilis*. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1516.
- Dula, S., Ajayeoba, T. A., & Ijabadeniyi, O. A. (2021). *Bacterial biofilm formation on stainless steel in the food processing environment and its health implications*. *Folia Microbiologica*, 66(3), 293–302.
- Faille, C., Bénézech, T., Blel, W., & Faille, C. (2013). *Role of stainless steel surface topography on bacterial adhesion and biofilm formation*. *Food Control*, 34(2), 474–483.
- Finton, M. A., Rhoads, W. J., Gabrielli, M., Olive, M., & Hammes, F. (2024). *Dynamics of drinking water biofilm formation associated with microbial colonization*. *npj Biofilms and Microbiomes*, 10, 101.
- Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). *Biofilms: an emergent form of bacterial life*. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575.
- Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). *Biofilms: an emergent form of bacterial life*. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575.

- Furuhashi, K., Kato, Y., Goto, K., Hara, M., & Fukuyama, M. (2009). *Diversity of heterotrophic bacteria isolated from biofilm samples and cell surface hydrophobicity*. Journal of General and Applied Microbiology, 55(1), 69–74.
- Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2018). *Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods*. Frontiers in Microbiology, 9, 898.
- Garrett, T. R., Bhakoo, M., & Zhang, Z. (2008). Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*, 18(9), 1049–1056.
- Gauthier, M. J., & Breittmayer, V. A. (1989). *Adhesion of marine bacteria to surfaces: role of physicochemical properties in bacterial attachment*. Journal of General Microbiology, 135, 1783–1791.
- Giaouris, E., Simões, M., & Dubois-Brissonnet, F. (2020). *The role of biofilms in the development and dissemination of microbial resistance within the food industry*. Foods, 9(6), 816.
- Gopal, N., Hill, C., Ross, P. R., Beresford, T. P., Fenelon, M. A., & Cotter, P. D. (2015). *The prevalence and control of Bacillus and related spore-forming bacteria in the dairy industry*. Frontiers in Microbiology, 6, 1418.
- Gopal, N., Hill, C., Ross, P. R., Beresford, T. P., Fenelon, M. A., & Cotter, P. D. (2015). *The prevalence and control of Bacillus and related spore-forming bacteria in the dairy industry*. Frontiers in Microbiology, 6, 1418.
- Grigore, M., Toader, G., & Chifiriuc, M. C. (2019). *Biofilm formation and antibiotic resistance in bacterial strains isolated from food industry environments*. Romanian Biotechnological Letters, 24(3), 1234–1243.
- Gündüz, G. T., & Tuncel, G. (2006). Biofilm formation in an ice cream plant. *Food Control / Food Microbiology context*, Springer.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2002). Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 95–108.
- Hamadi, F., Asserne, F., Elabed, S., Bensouda, S., Mabrouki, M., Latrache, H., & Chtaini, A. (2014). *Adhesion of Staphylococcus aureus on stainless steel treated with three types of milk*. Food Control, 38, 104–108.
- Haras, D. (2005). *Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention*. Matériaux & Techniques, 93, 21–28.

- Iliadis, I., Koutsoumanis, K., & Sofos, J. N. (2018). *Biofilm formation by foodborne pathogens and implications for food safety*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17(5), 1234–1250.
- Jahid, I. K., & Ha, S. D. (2013). *The paradox of mixed-species biofilms in the context of food safety*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(4), 414–435.
- Jang, H. J., Kim, K. S., & Choi, N. Y. (2015). *Biofilm formation and control of foodborne pathogens in food processing environments*. Food Control, 50, 688–694.
- Klinger, I., Schwalbe, R., & Smith, M. (2005). *Biofilm formation and persistence in food processing environments*. Journal of Food Protection, 68(5), 1052–1058.
- Koumba, A. (2007). *Identification biochimique des entérobactéries par la galerie API 20E*.
- Krasowska, A., & Sigler, K. (2014). *How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs?* Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 4, 112.
- Kruszewski, K., Tyski, S., & Grzybowski, J. (2013). *Biofilm formation by foodborne bacteria and its significance in food hygiene*. Polish Journal of Microbiology, 62(3), 229–236.
- 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.
- Langoni, H., Pinto, M. P., Domingues, P. F., & Listoni, F. J. P. (2008). *Biofilm production by Staphylococcus aureus isolated from milk and dairy products*. Brazilian Journal of Microbiology, 39(4), 664–667.
- Li, Y., Qu, Y., Yang, H., Zhou, X., Xiao, P., & Shao, T. (2023). *Combatting biofilms in potable water systems: A comprehensive overview to ensuring industrial water safety*. Environmental Microbiology Reports, 15(6), 445–454.
- Liu, N. T., Lefcourt, A. M., Nou, X., Shelton, D. R., Zhang, G., & Lo, Y. M. (2017b). *Native microflora in fresh produce processing plants and their potential roles in biofilm formation and sanitation resistance*. Food Control, 73, 117–125.
- Liu, Y., Dong, P., Zhu, L., Zhang, Y., & Luo, X. (2020). *Effect of four natural antimicrobial compounds on the biofilm formation ability of Listeria monocytogenes isolated from beef processing plants in China*. Food Science and Human Wellness, 9(4), 370–376.

- Lock, M. A. (1993). *Attached microbial communities in rivers*. In T. E. Ford (Ed.), **Aquatic microbiology: an ecological approach** (pp. 113–138). Blackwell Scientific Publications.
- Maki, D. G., Tambyah, P. A. (2001). Engineering out the risk of infection with urinary catheters. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), 342–347.
- Malek, F. (2019). *Bactéries sporulées et biofilms : un problème récurrent dans les lignes de production de lait reconstitué ou recombinaison pasteurisé*. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(6), 405–420.
- Mizan, M. F. R., Jahid, I. K., & Ha, S. D. (2016). *Advances in enzyme-based biofilm prevention approaches in the food industry*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1484–1502.
- Mogha, N. K., et al. (2014). Biofilm formation and detachment mechanisms in bacterial systems.
- Muhsin, J., Tasneem, U., Hussain, T., & Andleeb, S. (2015). Bacterial biofilm: Its composition, formation and role in human infections. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4(3).
- Nair, M. K. M., Joy, J., Vasudevan, P., Hinckley, L., Hoagland, T., & Venkitanarayanan, K. (2016). *Antibacterial effect of caprylic acid and monocaprylin on biofilm-forming multidrug-resistant Listeria monocytogenes and Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*, 79(11), 1793–1801.
- Nair, M. K. M., Joy, J., Vasudevan, P., Hinckley, L., Hoagland, T. A., & Venkitanarayanan, K. S. (2016). *Antibacterial activity of caprylic acid and monocaprylin on major bacterial mastitis pathogens*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48(6), 765–767.
- Pasvolsky, R., Zakin, V., Ostrovski, Y., & Shemesh, M. (2014). *Butyric acid produced by commensal bacteria down-regulates virulence gene expression in Salmonella enterica serovar Typhimurium*. *Cell Host & Microbe*, 16(4), 553–563.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2011). *Microbiology* (8th ed.). McGraw-Hill Education.
- Quigley, A. J., Davies, D. G., & O'Toole, G. A. (2013). *Biofilm development and the regulation of adhesion in bacteria*. *Microbiology Spectrum*, 1(1).

- Rumbaugh, K. P., & Whiteley, M. (2014). *Bacterial fight-and-flight responses enhance virulence in a polymicrobial infection*. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), 111(21), 7819–7824.
- Sanchez, Z., Tani, A., Suzuki, N., Kariyama, R., Kumon, H., & Kimbara, K. (2013). Assessment of change in biofilm architecture by nutrient concentration using a multichannel microdevice flow system. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 115(3), 326–331
- Sauer, K., Camper, A. K., Ehrlich, G. D., Costerton, J. W., & Davies, D. G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of Bacteriology*, 184(4), 1140–1154.
- Shemesh, M., & Ostrov, I. (2020). *Role of Bacillus species in biofilm persistence and emerging antibiofilm strategies in the dairy industry*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 100(6), 2327–2336.
- Shi, X., & Zhu, X. (2009). *Biofilm formation and food safety in food industries*. Trends in Food Science & Technology, 20(9), 407–413.
- Simões, M., Simões, L. C., & Vieira, M. J. (2010). *A review of current and emergent biofilm control strategies*. LWT – Food Science and Technology, 43(4), 573–583.
- Simões, M., Simões, L. C., & Vieira, M. J. (2010). *A review of current and emergent biofilm control strategies*. LWT - Food Science and Technology, 43(4), 573–583.
- Sinnenlä, M. T., Pawluk, A. M., Jin, Y. H., Kim, D., & Mah, J.-H. (2021). *Effect of calcium and manganese supplementation on heat resistance of spores of Bacillus species associated with food poisoning, spoilage, and fermentation*. Frontiers in Microbiology, 12, 744953.
- Skovager, A., Whitehead, K., Siegmundfeldt, H., & Ingmer, H. (2013). *Quantifying the inherent biofilm tolerance of bacterial pathogens towards conventional food sanitation treatments*. Food Control, 30(2), 627–635.
- Srey, S., Jahid, I. K., & Ha, S. D. (2013). *Biofilm formation in food industries: A food safety concern*. Food Control, 31(2), 572–585.
- Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021). *Microbial biofilms in the food industry—A comprehensive review*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(4), 2014.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukić, S., Ćirković, I., & Růžička, F. (2007). *Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing*

- conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 115(8), 891–899.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Dukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007). *Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 115(8), 891–899.
 - Sutherland, I. W. (2001). *The biofilm matrix—an immobilized but dynamic microbial environment. Trends in Microbiology*, 9(5), 222–227.
 - Tomé, A. R., Carvalho, F. M., Teixeira-Santos, R., Burmølle, M., Mergulhão, F. J. M., & Gomes, L. C. (2023). Use of probiotics to control biofilm formation in food industries. *Antibiotics*, 12(4), 754.
 - Ukuku, D. O., & Fett, W. F. (2002). *Relationship of cell surface charge and hydrophobicity to strength of attachment of bacteria to cantaloupe rind. Journal of Food Protection*, 65(7), 1093–1099.
 - van Loosdrecht, M. C. M., Norde, W., Lyklema, J., & Zehnder, A. J. B. (1990). Hydrophobic and electrostatic parameters in bacterial adhesion. *Aquatic Sciences*, 52, 103–114.
 - Yannick D.N., Skander T., Mario Jacques H. 2014. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78: 110- 116.
 - Yuan, Y., Sun, Y., Lang, Y., Yan, Z., Wang, L., & Zhang, Z. (2020). *High-throughput sequencing analysis of marine pioneer surface-biofilm bacteria communities on different PDMS-based coatings. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 185, 110538.
 - Zhou, Y., Zhang, J., & Zhao, Y. (2022). *Bacterial biofilm probed by scanning electrochemical microscopy: A review. ChemElectroChem*, 9(19), e202200470.
 - Ziadi, C. (2017). Analyse phénotypique et quantitatification de la formation de biofilm par les bactéries d'intérêt médical. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algérie.

Annexes

Bouillon cœur cervelle : (BHIB) : Brain heart infusion broth

Composition chimique du milieu de culture la formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifiée est :

Extrait de cœur	5g
Extrait de cervelle	12.5g
Peptone	10g
Glucose	2g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate disodique	2.5g
PH	25°C = 7.4

Composition et préparation du milieu PCA (Plate Count Agar)

Tryptone	5g
Extrait de levure	2.5g
Glucose	4g
Gélose (Agar)	9g
Eau distillée	1000m
PH final	7,0+/_0.2

Eau physiologique

Eau distillée	1000ml
Nacl	9g

Tableau01 : Résultat de galerie API 20E de la souche (1 pré LR.AP.SF1)

Tests	OPNG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Tableau02 : Résultat de galerie API 20E de la souche (1 pré LR.AP.SF2)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Tableau03 : Résultat de galerie API 20E de la souche (1 pré LR.AP.SF5)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+

Tableau04 : Résultat de galerie API 20E de la souche (1 pré LR.AV.SF3)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Tableau05 : Résultat de galerie API 20E de la souche (1 pré LR.AP.SF3)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau06 : Résultat de galerie API 20E de la souche (1 pré LR.AV.SF1)

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau07 : Résultat de galerie API 20E de la souche (1 pré LR.AP.SF5')

Tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
Résultat	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Résultat	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E

Abréviation	Substrat / Milieu	Caractère recherché	Lecture	Résultat +	Résultat +	Résultat -
ONPG	o-Nitrophényl-β-D-galactopyranoside	β-galactosidase	Lecture directe	Jaune		Jaune
ADH	Arginine	Lysine dihydrolase	Lecture directe	Rouge		Jaune
LDC	Citrate	Utilisation de H ₂ S	Lecture directe	Bleu		Jaune
CIT	Citrate	Production de H ₂ S	Lecture directe	Blanc		Jaune
URE	Tryptophane	Uréase	Lecture directe	Rose		Jaune
IND	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Après ajout de FeCl ₃	Rouge		Alocune
VP	Glucose	Fermentation	Après ajout de Kovacs	Rouge		Oincune
MAN	Mannitol	Fermentation	Après ajout de	Jaune		Jaune
INO	Inositol	Fermentation	Après ajout de	Jaune		Jaune
SOR	Rhamnose	Fermentation	Fermentation	Jaune		Jaune
RHA	Saccharose	Fermentation	Fermentation	Jaune		Jaune
SAC	Méllobiose	Fermentation	Fermentation	Jaune		Jaune
MEL	Amygdaline	Fermentation	Fermentation	Jaune		Jaune
OK (facultatif)	Activité oxydase	Activité oxydase	Lecture directe on bandelette	Bleu		Oincore

Résumé

Les biofilms bactériens constituent un enjeu majeur dans l'industrie laitière en raison de leur implication dans la contamination des équipements de production et de leur capacité à assurer la persistance des microorganismes dans l'environnement industriel. L'adhésion des cellules bactériennes aux surfaces représente l'étape initiale et déterminante du processus de formation du biofilm. Cette adhésion est influencée par plusieurs facteurs, notamment les propriétés physicochimiques de la surface cellulaire, parmi lesquelles l'hydrophobicité joue un rôle essentiel.

La présente étude a été menée dans le but d'évaluer l'influence de l'hydrophobicité des souches bactériennes isolées de l'environnement laitier sur leur aptitude à former des biofilms. Après leur isolement, les souches ont été caractérisées par des méthodes microbiologiques et biochimiques, puis identifiées à l'aide de la galerie API 20E. L'hydrophobicité cellulaire a été déterminée par la technique MATH (Microbial Adhesion to Hydrocarbons), tandis que la capacité de formation du biofilm a été évaluée par la méthode TCP (Tissue Culture Plate) ainsi que sur des surfaces en acier inoxydable.

Les résultats de la technique MATH ont révélé des taux d'hydrophobicité variant de 14,6 % à 47,4 %. La majorité des souches ont présenté une hydrophobicité modérée, alors qu'une seule souche a été caractérisée par une faible hydrophobicité. L'évaluation du potentiel de formation du biofilm par la méthode TCP (Tissue Culture Plate) a mis en évidence des valeurs de densité optique (DO570) comprises entre 0,247 et 2,162. Toutes les souches étudiées se sont révélées capables de former un biofilm, avec des niveaux de production variables allant de modérément formatrices à fortement productrices de biofilm.

L'ensemble de ces résultats suggère l'existence d'une association entre les propriétés hydrophobes de la surface cellulaire bactérienne et la capacité d'adhésion ainsi que de formation du biofilm. Cette étude met en évidence l'importance de la caractérisation de l'hydrophobicité bactérienne dans la compréhension des mécanismes de colonisation des surfaces au sein de l'industrie laitière et contribue à l'amélioration des stratégies de prévention et de maîtrise des contaminations microbiologiques.

Mots-clés : Hydrophobicité bactérienne ; Formation de biofilm ; Industrie laitière ; Acier inoxydable.

Abstract

Bacterial biofilms represent a major challenge in the dairy industry due to their involvement in the contamination of production equipment and their ability to promote the persistence of microorganisms in industrial environments. Bacterial adhesion to surfaces constitutes the initial and crucial step in the biofilm formation process. This adhesion is influenced by several factors, particularly the physicochemical properties of the bacterial cell surface, among which hydrophobicity plays a key role.

The present study aimed to evaluate the influence of the hydrophobicity of bacterial strains isolated from the dairy environment on their ability to form biofilms. Following isolation, the strains were characterized using microbiological and biochemical methods and identified using the API 20E system. Cell surface hydrophobicity was determined using the MATH (Microbial Adhesion to Hydrocarbons) technique, while biofilm-forming ability was assessed using the TCP (Tissue Culture Plate) method as well as on stainless steel surfaces.

The MATH assay revealed hydrophobicity values ranging from 14.6% to 47.4%. Most of the strains exhibited moderate hydrophobicity, whereas only one strain showed low hydrophobicity. Evaluation of biofilm formation by the TCP method demonstrated optical density (OD570) values ranging from 0.247 to 2.162. All tested strains were capable of forming biofilms, with varying levels of production, ranging from moderate to strong biofilm producers.

Overall, these findings suggest a relationship between the hydrophobic properties of the bacterial cell surface and the ability of the strains to adhere to surfaces and form biofilms. This study highlights the importance of characterizing bacterial hydrophobicity to better understand surface colonization mechanisms in the dairy industry and to contribute to the development of effective strategies for the prevention and control of microbial contamination.

Keywords: Bacterial hydrophobicity; Biofilm formation; Dairy industry; Stainless steel;

المخلص

تُعد الأغشية الحيوية البكتيرية (Biofilms) من أهم التحديات التي تواجه الصناعة اللبنية، نظراً لدورها في تلوث معدات الإنتاج وقدرتها على ضمان بقاء الكائنات الحية الدقيقة واستمرارها في البيئات الصناعية. ويُعتبر التصاق الخلايا البكتيرية بالأسطح المرحلة الأولى والحاسمة في عملية تكوين الغشاء الحيوي، حيث تتأثر هذه العملية بعدة عوامل، من بينها الخصائص الفيزيائية والكيميائية لسطح الخلية البكتيرية، والتي تُعد الكارهية للماء (الهيدروفوبية) من أهمها. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير هيدروفوبية السلالات البكتيرية المعزولة من البيئة اللبنية على قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية. وبعد عزل السلالات،

تم توصيفها باستعمال الطرق الميكروبيولوجية والكيميائية الحيوية، ثم تم التعرف عليها باستخدام نظام API 20E. كما تم تقييم هيدروفوبية السطح الخلوي باستعمال تقنية MATH (الاتصاق الميكروبي بالهيدروكربونات)، في حين تم تقييم القدرة على تكوين الغشاء الحيوي باستعمال تقنية TCP (صفحة زراعة الأنسجة) وكذلك على أسطح من الفولاذ غير القابل للصدأ.

أظهرت نتائج اختبار MATH أن قيم الهيدروفوبية تراوحت بين 14.6% و 47.4%، حيث أظهرت معظم السلالات هيدروفوبية متوسطة، بينما تميزت سلالة واحدة فقط بهيدروفوبية ضعيفة. كما بينت نتائج تقييم تكوين الأغشية الحيوية باستخدام تقنية TCP أن قيم الكثافة الضوئية (OD570) تراوحت بين 0.247 و 2.162. وقد أظهرت جميع السلالات المدروسة قدرة على تكوين الأغشية الحيوية بدرجات متفاوتة، تراوحت بين سلالات متوسطة التكوين وسلالات قوية الإنتاج للغشاء الحيوي. تشير هذه النتائج إلى وجود علاقة بين الخصائص الهيدروفوبية لسطح الخلية البكتيرية وقدرتها على الالتصاق بالأسطح وتكوين الأغشية الحيوية. وتبرز هذه الدراسة أهمية توصيف الهيدروفوبية البكتيرية لفهم آليات استعمال الأسطح في الصناعة اللبنية بشكل أفضل، والمساهمة في تطوير استراتيجيات فعالة للوقاية من التلوثات الميكروبية والسيطرة عليها.

الكلمات المفتاحية: كراهية البكتيريا للماء؛ تكوين الأغشية الحيوية؛ الصناعة اللبنية؛ الفولاذ المقاوم للصدأ.