



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2020

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

*YAHY Zahra & BAILECHE Sabrina*

*Thème*

**Les biofilms en industrie agro-alimentaire et dans le  
domaine médical, état des lieux en Algérie**

Soutenu le: 12 /07/2021

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme IDIR T</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme MESSAD S</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme BENFOODIL K</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2020/2021

## Résumé

Le mode de vie en biofilm est predominant chez les organismes unicellulaires. L'autre alternative est la flottation libre qualifiée de "planctonique". Cette dernière a longtemps été considérée comme leur unique forme de vie. Ce n'est que récemment que les biofilms sont admis comme un mode de vie normale, et les microorganismes qu'il héberge sont responsables de nombreuses infections bactériennes et présentent la majeure cause de morbidité dans les industries agroalimentaires, et les milieux hospitalier compte tenu de leur résistance aux différents traitements antimicrobiens, induisant des graves problèmes de santé publique. Ce travail représente une petite synthèse bibliographique sur le biofilm, et un état de l'art sur les rares travaux déjà réalisées en Algérie sur l'étude de formation et l'évaluation des biofilms dans le domaine industriel et médical. Cette étude est focalisée sur l'analyse de certains paramètres tels que l'origine, les conséquences, et même les causes qui conduisent à la formation des biofilms dans l'industrie laitière, les canalisations des eaux potables, aussi les milieux hospitaliers en Algérie, ce qui permettrait éventuellement de trouver des moyens et des stratégies thérapeutiques pour lutter contre les biofilms.

**Mots clés:** biofilms, microorganismes, résistance bactérienne, domaine industriel, domaine médical.

## Abstract

The biofilm mode of life is predominant in unicellular organisms. The other alternative is the free flotation qualified as "planktonic". This last one has been considered for a long time as their only form of life. It is only recently that biofilms are admitted as a normal way of life and microorganisms responsible for many bacterial infections and which presents the major cause of morbidity in the food industries and hospital environments due to their resistance to the current antimicrobial treatments and this poses serious public health problems. This work is a bibliographic synthesis of the works already carried out on the study of formation and evaluation of biofilms in the industrial and medical fields in Algeria. This study is focused on the analysis of certain parameters such as the consequences, the origin, and even the causes which lead to the formation of biofilms in the dairy industry, the drinking water pipes, also the hospital environments in Algeria, which makes it possible to have means and therapeutic strategies to fight against biofilms.

**Keywords:** biofilms, microorganisms, bacterial resistance, industrial fields, medical fields.

## المخلص

يسود نمط حياة الأغشية الحيوية الرقيقة في الكائنات أحادية الخلية. حيث يوجد البديل الآخر هو التعويم الحر المشار إليه باسم "العوالق". لطالما اعتبر الأخير شكل حياتهم الوحيد. لم يتم قبول الأغشية الحيوية كطريقة طبيعية للحياة إلا مؤخرًا ، والكائنات الحية الدقيقة التي تؤويها مسؤولة عن العديد من الالتهابات البكتيرية والتي تمثل السبب الرئيسي للمرض في الصناعات الغذائية وبيئات المستشفيات نظرًا لمقاومتها لمضادات الميكروبات. حيث أنها تسبب مشاكل صحية عامة خطيرة. يمثل هذا العمل توليفًا ببلوغرافيًا صغيرًا عن الأغشية الحيوية وحديثًا عن الأعمال النادرة التي تم تنفيذها بالفعل في الجزائر دراسة التدريب وتقييم الأغشية الحيوية في المجال الصناعي والطبي. تركز هذه الدراسة على تحليل معايير معينة مثل الأصل والنتائج وحتى الأسباب التي تؤدي إلى تكوين الأغشية الحيوية في صناعة الألبان وأنايب مياه الشرب ، وكذلك المستشفيات في الجزائر ، والتي ستجعل من الممكن في النهاية إيجاد وسائل و استراتيجيات علاجية لمحاربة الأغشية الحيوية .

**الكلمات المفتاحية:** الأغشية الحيوية ، الكائنات الحية الدقيقة ، المقاومة البكتيرية ، المجالات الصناعية ، المجالات الطبية.

## *Remerciement*

*Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour la santé, la patience et le courage qu'il nous à donner, pour la réalisation de ce modeste travail.*

*En seconde lieu, nous tenons à remercier notre chère encadreur Mme MESSAD S pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ses précieux conseils sa confiance et son aide durant toute la période du travail.*

*Notre vif remerciement pour les membres du jury à commencer par Mme IDIR T Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.*

*A Mme BENFOUDIL K d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Nous remercions toutes personnes ayant participé de près ou de loin d'avoir à la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous remercions énormément tous nos collègues de la spécialité Microbiologie appliquée.*

**Sabrina & Zahra**

# *Dédicace*

*A Allah*

*Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin.*

*A mon très cher Père Kouider*

*Merci papa pour tes prières, tes conseils nuit Merci pour ce que tu as fait et tous ce que tu feras encore pour moi. Que Dieu t'accorde santé et longévité et qu'il m'aide à ce que je puisse accomplir pleinement mes devoirs envers toi.*

*A ma très chère mère Louiza*

*Ce travail est le fruit de tes efforts, de ton amour, de tes prières et de tes encouragements. Que DIEU t'accorde longue vie auprès de nous.*

*A mes sœurs wissem et imane*

*Merci, adorables soeurs, d'avoir montré tant de complaisance et de serviabilité à mon égard. Puisse Allah, le Très-Haut, vous accorder une vie heureuse et un avenir prospère.*

*A mes nieces et mon neveu Ilef Tasnim et Ghaith*

*A mon chère binôme Zahra et sa famille*

*A mes meilleures amies*

*Naima ,Hayet , Kaouthar ,Nessrine ,Hasna ,Imane*

*Vous êtes plus que des amies pour moi, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A Tous mes amis d'enfance et du long parcours scolaire et universitaire.*

*Sabrina*



## *Dédicace*

*Avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers parents, pour leur patience, leur sacrifices, leur tendresses  
et soutien durant mes études, aucun hommage ne pourrait être à la  
hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler.*

*Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A mes chères frères fares Abdo et fayçal et à mes deux chères sœurs Fatiha  
et Ikram, pour leur amour et compréhension,*

*Que dieu les protège.*

*A mon fiancé Mohamed, pour son encouragement et son soutien  
Constant toute au long de ce travail.*

*A ma belle famille.*

*A mon binôme Sabrina à qui je souhaite tout le bonheur et la réussite*

*Du monde.*

*A mes chères copines : Amira, Ferile, Nesrine, Djihad et Assia*

*Et a tous mes camarades de promotion master 2 Microbiologie Appliquée.*

*Zahra*

## Liste des Abréviations

<b>ADN</b>	d'acide désoxyribonucléique
<b>ATB</b>	Antibiotique
<b><i>B. cereus</i></b>	<i>Bacillus cereus</i>
<b>BHIB</b>	Bouillon infusion cœur cerveau
<b>BFRT</b>	Le Biofilm Ring Test
<b>CHU</b>	centre hospitalier universitaire.
<b>CV</b>	cristal Violet
<b>DO</b>	densités optiques
<b><i>E.coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EPS</b>	exo-polysaccharide
<b>GRAS</b>	Generally Recognised As Safe
<b>IAA</b>	l'industrie alimentaire agroalimentaire
<b>LPS</b>	lipopolysaccharides
<b>PBS</b>	tampon phosphate salin
<b>pH</b>	potentiel d'hydrogène
<b>PIA</b>	Polysaccharide Intercellular Adhésion
<b><i>P.aeruginosa</i></b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>QS</b>	Quorum-Sensing
<b>RCA</b>	Test du milieu rouge congo
<b><i>S. aureus</i></b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b><i>S.epidermidis</i></b>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<b>TCP</b>	Méthode de la plaque de culture tissulaire
<b>TM</b>	méthode du tube à essai
<b>TIAC</b>	toxi infection alimentaire collective

Liste des figures	Page
<b>Figure01.</b> Biofilm de <i>Legionella pneumophila</i> formé sur de l'acier Inoxydable	<b>5</b>
<b>Figure02.</b> Composition du biofilm	<b>6</b>
<b>Figure03.</b> Représentation schématique des différentes étapes menant à la formation biofilm.	<b>10</b>
<b>Figure04.</b> Mécanismes développés par le biofilm pour résister à l'action d'agents antimicrobiens.	<b>16</b>
<b>Figure05.</b> Formation de biofilm en microplaque	<b>18</b>
<b>Figure06.</b> Evaluation de la production de biofilm par la méthode TM	<b>19</b>
<b>Figure07.</b> Culture sur la gélose Rouge Congo. (A) RCA-positive souche de <i>S. epidermidis</i> (colonies noires), (B) RCA-positive souche de <i>S. aureus</i> (colonies noires), (C) RCA-négative souche de <i>P. aeruginosa</i> (colonies rouges)	<b>19</b>
<b>Figure08.</b> Le principe de Biofilm Ring Test	<b>20</b>
<b>Figure09.</b> Une coupe transversale d'une sonde urinaire en silicone à demeure (lumière centrale est obstruée par un biofilm cristallin)	<b>27</b>
<b>Figure10.</b> Principales infections associées aux biofilms	<b>28</b>

<b>Liste des tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I.</b> Les différents facteurs affectant le flux de travail et la croissance des microorganismes dans les biofilms.	<b>11</b>
<b>Tableau II.</b> Liste partielle d'infections humaines impliquant des biofilms .	<b>26</b>

# Table des matières

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Le concept du biofilms</b>	
I.1. Historique	3
I.2. Définition	5
I.3. Diversité des biofilms	6
I.4. Composition de biofilm	6
I.5. Processus de formation de biofilm	7
I.5.1. Formation du film de conditionnement	7
I.5.2. Adhérence réversible	7
I.5.3. Adhérence irréversible	8
I.5.4. Développement précoce du biofilm	8
I.5.5. La maturation du biofilm	9
I.5.6. Le détachement du biofilm	9
I.6. Le Quorum-Sensing	10
I.7. Les conditions de développement d'un biofilm	11
I.8. Effets de biofilms	12
I.8.1. Effets bénéfiques	12
I.8.2. Effets néfastes	12
<b>Chapitre II : les biofilms dans les industries agro-alimentaires</b>	
II.1. Définition de l'industrie agroalimentaire	13
II.2. Types des industries agroalimentaires	13
II.2.1. Industrie céréalière	13
II.2.2. L'industrie des produits laitiers	13
II.2.3. L'industrie des boissons (BRSA, jus, eaux en bouteilles)	13
II.2.4. L'industrie sucrière	14
II.2.5. L'industrie des fruits et légumes	14
II.2.6. L'industrie de la viande	14
II.2.7. Industrie des aliments pour les animaux	14
II.2.8. Industrie du poisson	14
II.3. Contexte Générale sur les biofilms dans l'industrie Agroalimentaire	15
II.4. Problèmes liés aux biofilms dans les Industries	15
II.5. Méthodes de détection des biofilms	17

II.5.1. Méthode de plaque de culture de tissus .....	17
II.5.2. La Méthode en tube .....	18
II.5.3. La culture sur rouge congo agar .....	19
II.5.4. Le biofilm Ring Test .....	19
II.6. Modèles de biofilms industriels .....	21
II.6.1. Biofilms Négatifs .....	21
II.6.1.1. <i>Listeria monocytogene</i> .....	21
II.6.1.2. <i>Escherichia coli</i> .....	22
II.6.1.3. <i>Staphylococcus sp</i> .....	22
II.6.1.4. <i>Bacillus cereus</i> .....	23
II.6.2 Biofilms Positifs .....	23
II.6.2.1. Levures .....	23
II.6.2.2. Bactéries Lactiques .....	23
<b>Chapitre III: les biofilms dans domaine médical</b>	
III.1. les Biofilms sur les dispositifs médicaux .....	26
III.2. Infections liées aux biofilms .....	28
III.2.1. Infection associées aux plaies .....	29
III.2.2. Mucoviscidose .....	29
III.2.3. Infections urinaires récidivantes .....	29
III.2.4. Pathologies buccodentaires et oto-rhino-laryngologie .....	30
III.2.5. Endocardite infectieuse.....	30
III.3. Résistance aux Antibiotiques .....	31
III.4. Protection vis-à-vis du système immunitaire .....	31
<b>Chapitre IV: Etat de l'art en Algérie</b>	
IV .1. Les biofilms dans le domaine agro-alimentaire .....	32
IV .2. Les biofilms dans le domaine médical.....	34
<b>Chapitre V : Stratégie thérapeutique pour lutter contre les biofilms</b>	
V.1. Mesures préventives qui empêchent la formation des biofilms .....	36
V.1. 1. Hygiène .....	36
V.1. 2. Les dispositifs imprégnés d'argent ou de substances antimicrobiennes .....	36
V.1. 3. Les verrous d'agents chélateurs .....	36
V.2. Traitements curatifs pour l'élimination des biofilms déjà formés (élimination mécanique du biofilm).....	37

V.3. Nouvelle approches .....	37
V.3.1. Brouiller les communications et limiter la maturation du biofilm.....	37
V.3.2. Cibler la matrice exopolysaccharidique .....	37
V.3.3. Elimination ciblée d’une espèce microbienne au sein du biofilm .....	38
V.3.4. Potentialisation de l’action des antibiotiques.....	38
<b>Conclusion</b> .....	39
<b>Les références bibliographiques</b> .....	40

## Introduction

---

«L'union fait la force», cette maxime bien connue pourrait résumer le cas des biofilms. Les micro-organismes sont la première forme de vie sur notre planète. Ils rassemblent des bactéries, des levures, des algues, des champignons et des protozoaires. Ces organismes sont omniprésents, s'installent dans le sol, l'eau douce, l'eau de mer et l'atmosphère, et sont associés les uns aux autres par des relations qui s'adaptent à leurs besoins biologiques. Ils jouent un rôle important dans presque tous les écosystèmes.

Depuis de nombreuses années, les biofilms sont la cible d'importantes recherches. Ils peuvent être formés sur tout type de surface naturelle ou artificielle, qu'elle soit minérale (roche, interfaces air-liquide...), organique (peau, tube digestif des animaux, racines et feuilles des plantes), industrielle (canalisations) ou médicale (prothèses, cathéters, sondes urinaires....) (Costerton, 1999).

Au sein des biofilms, les microorganismes sessiles développent des caractéristiques assez différentes de celles des microorganismes planctoniques, par exemple la mise en œuvre d'une expression génique spécifique, qui se caractérise par des modifications fondamentales du Phénotype et obtenir les caractéristiques spécifiques aux biofilms, notamment la résistance aux antibiotiques et l'expression de facteurs de résistance à de nombreux stress environnementaux, l'utilisation et la modification des systèmes de communication chimique, modification de la structure pour produire des d'exopolymères.

Le mode de vie en biofilms a posé des problèmes majeurs à l'homme et à ses activités industrielles. Tous les secteurs agroalimentaires peuvent être touchés car tout équipement non stérilisé contient des micro-organismes qui peuvent déclencher le processus de colonisation, en particulier dans les zones difficiles à nettoyer et à désinfecter. Le biofilm composé de bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas sp*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus sp* (Roux, 2006). Peut se mettre en place en quelques heures, et permettra ainsi aux bactéries qui s'y trouvent de devenir résistantes aux facteurs extérieurs. Outre tous ces aspects négatifs, qui sont les plus évoqués, des aspects positifs existent induits par des genres tels que *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*.

Un certain nombre de méthodes sont disponibles pour détecter la production de biofilm in vitro parmi lesquels la méthode de coloration au cristal violet et la méthode de culture sur milieu au Rouge Congo (Djelloul Daouadji, 2010 ; Achek, 2020).

En médecine, environ 65 % des infections sont dues à des biofilms dans les pays dits développés. Ils sont aussi impliqués dans 60 % des infections nosocomiales et dans toutes les



## Introduction

---

infections prothétiques (Roux, 2006), les biofilms sont particulièrement importants car ils présentent un problème majeur de santé publique, impliquant un large éventail d'infections dans le corps humain (Costerton, 1999). Ces infections causées par les biofilms sont résistantes aux traitements antibiotiques et causent de graves problèmes pour la santé.

A cause à la résistance de biofilms au traitement, de nombreuses stratégies de prévention et de contrôle ont été mises en œuvre pour les éliminer. La mise en place de bonnes pratiques d'hygiène, la conception de choisir les équipements sanitaires en choisissant les matériaux et les formes nettoyants et désinfectants et procédures d'assainissement les plus appropriés (Langoni et *al.*, 2008).

L'objectif général de ce travail est de décrire le biofilm, suivre son développement, sa physiologie ainsi que les différents risques infectieux liés à sa présence soit dans le domaine médical ou industriel, tout en essayant de mettre le point sur l'état de l'art des travaux en Algérie malgré la rareté des études.

# **Chapitre I : Le concept du biofilm**

### I.1. Historique

Le biofilm est observé depuis longtemps mais ses caractéristiques et sa structure ne sont toujours pas claires. Durant les années 1600, l'homme d'affaires et scientifique Néerlandais Antoni Van Leeuwenhoek a été le premier à observer et à décrire des micro-organismes appelés à l'origine "animalcules" à l'aide de microscopes manuels. Il a utilisé un échantillon de la surface de la dent (Donlan, 2002).

En 1933, Arthur Henrici observe l'existence des biofilms en expérimentant la croissance d'algues placées sur une lame de verre et immergées dans un aquarium. Il a remarqué que les microorganismes vivent en communautés organisées en milieu aqueux, fixés sur des supports, entourés d'une matrice, plutôt que sous une forme flottante (cellules isolées, flottant dans un milieu liquide) (Henrici, 1933).

En 1935 Claude Ephraim Zobell a poursuivi les études sur les biofilms. Il a également observé le comportement des bactéries dans un milieu aquatique, les phénomènes de la fixation réversible/irréversible ainsi que la formation de micro-colonies qui sont les premières étapes de la formation d'un biofilm (Zobell et Allen, 1935).

En 1969, les recherches de Jones et *al.* en utilisant la microscopie électronique à balayage et à transmission pour examiner le biofilm sur le filtre de station de traitement des eaux usées, ont montré qu'ils étaient composés d'une variété d'organismes

Quelques années plus tard, avec l'émergence de nouvelles technologies, l'étude des biofilms prend un véritable essor. La technologie utilisée, principalement la microscopie électronique à balayage et la culture microbienne, en utilisant des colorants polysaccharides spécifiques (rouge de ruthénium) et des fixateurs (tétroxyde d'osmium), a permis aux chercheurs de prouver que la matrice qui entoure les cellules de ces biofilms est un polysaccharide.

C'est à partir des années 1973, que Characklis a étudié les boues microbiennes dans les systèmes industriels d'eau et a montré que les biofilms sont également très résistants au chlore et à d'autres désinfectants (Characklis, 1973). Quelques années plus tard, en observant la plaque dentaire et les communautés sessiles dans les ruisseaux de montagne, Costerton et son équipe ont proposé des théories sur le mécanisme par lequel les micro-organismes adhèrent aux matériaux vivants au lieu des matériaux vivants. Le terme « biofilm » a été proposé pour

la première fois, en supposant que ce sera le mode de vie naturel adopté par de nombreux micro-organismes (Costerton, 1978).

De nos jours, de nombreuses recherches ont été menées sur les biofilms, que ce soit dans le domaine médical, industriel ou en milieu naturel.

### I.2. Définition

Le terme biofilm étymologiquement parlant vient du grec «bios» et de l'anglais «film» qui signifie pellicule (Costerton, 1999).

Le biofilm est défini comme un ensemble de cellules microbiennes agrégées, qui peuvent être composées d'un ou plusieurs espèces de micro-organismes (Behlau et Gilmore, 2008), qui sont attachés à des surfaces inertes ou vivante set combinés sous forme de matrice d'exo-polysaccharide (EPS) sécrétée par lui-même (Dunne, 2002 ; Cooper et Okhiria, 2006 ; Hall-Stoodley et *al.*, 2012). Les biofilms composent la plupart des modes de vie des micro-organismes qui sont contraires à l'état planctonique (Stoodley et *al.*, 2002 ; Van Houdt et Michiels, 2005). Les biofilms peuvent pousser sur différentes surfaces naturelles ou artificielles; sur l'eau, le sol, les plantes (racines ou feuilles), les animaux ( peau, plaque dentaire, muqueuse intestinale, etc...). Ils peuvent exister dans tout tissu en milieu naturel, industriel ou hospitalier.

La Figure 01 montre le biofilm de *Legionella pneumophila* sur de l'acier inoxydable observé au microscope électronique à balayage.



**Figure 01.** Biofilm de *Legionella pneumophila* formé sur de l'acier inoxydable  
Photographie prise au microscope électronique à balayage (Jouenne, 2008).

### I.3. Diversité des biofilms

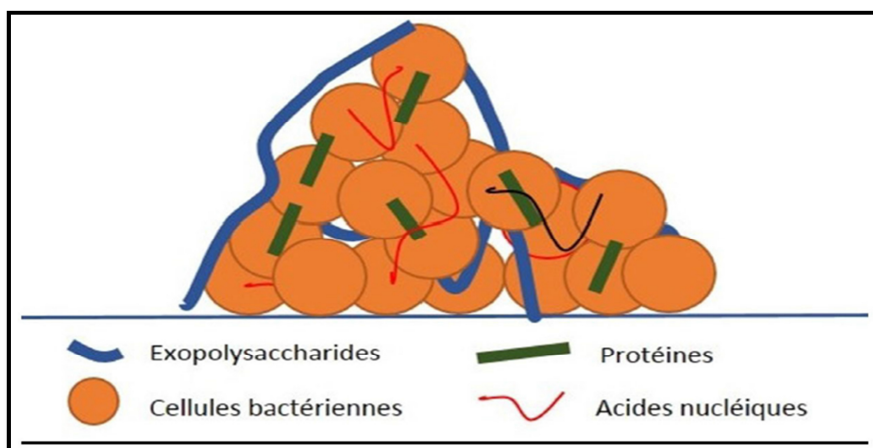
Dans la nature, les bactéries existent sous deux formes ; libres flottant dans leur environnement (la forme planctonique) et sous forme de biofilm. Elles peuvent passer d'une forme à l'autre. Le mode de vie le plus dominant des bactéries dans l'environnement est sous forme de biofilm (Costerton, 1978).

Les bactéries sous forme planctonique vont s'attacher sur une surface de façon irréversible et vont croître. Pendant cette croissance, elles vont produire des polymères extracellulaires qui vont s'accumuler et former une matrice extracellulaire à forte teneur en eau. Les bactéries vont être immobilisées dans cette matrice, leur proximité va permettre de réaliser des échanges de nutriments et de signaux.

Le mode de vie en biofilm permet à une colonie bactérienne de vivre en ayant une protection contre un certain nombre de stress environnementaux (Kadi, 2018).

### I.4. Composition de biofilm (Figure 02)

Les bactéries capables de former des biofilms présentent des caractéristiques. En effet, les cellules bactériennes sont couvertes par une matrice représentée par un polymère hautement hydraté (> 90% d'eau), composé de polysaccharides extracellulaires, Les protéines et les acides nucléiques, cependant, leur distribution dépend de l'espèce préoccupée. Nous citons chez *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), le polysaccharide le plus courant est Polymère de N-acétyl-D-glucosamine appelé polysaccharide Adhésine intercellulaire (PIA) (Tremblay, 2014 ; Arciola et al., 2015).



**Figure 02.** Composition du biofilm (Lister et al., 2014).

### I.5. Processus de formation de biofilm

La formation de biofilm est un processus dynamique qui peut être divisé en plusieurs étapes (Olszewska et Magdalena, 2020) ; attachement réversible, attachement irréversible, développement précoce, maturation et dispersion. Les deux derniers s'impliquent une cascade d'expression génétique (Reen, 2019).

Le biofilm peut se trouver sur une grande variété de surfaces telles que les tissus vivants, les dispositifs médicaux, ou autres supports retrouvés dans le sol ou dans les endroits aquatiques et sur les équipements de l'industrie agroalimentaire (Talaro, 2008).

#### I.5.1. Formation du film de conditionnement

Tout d'abord, un film de conditionnement est produit lors de l'immersion dans un liquide (Belmar-Beiny et Fryer, 1992 ; Boyd *et al.*, 2000). Le film de conditionnement peut contenir des composés chimiques inorganiques ou organiques, ou des produits biologiques de l'environnement (Zottola et Sasahara, 1994).

La nature du film sera affectée par la nature de la surface et la source du film. Ce film va modifier les propriétés physico-chimiques de la surface (tension de surface, polarité), il va inhiber ou stimuler l'adhésion bactérienne. Des charges négatives peuvent être acquises ce qui va diminuer l'hydrophobicité. Les constituants de ce film vont servir de substrat aux micro-organismes qui vont adhérer à la surface. Suite à l'accumulation de molécules organiques et inorganiques, la concentration en nutriments est plus élevée sur le support que dans la phase aqueuse, des micro-niches favorables à l'adhésion stable des micro-organismes vont donc se créer. Les micro-organismes y trouvent des nutriments disponibles et/ou des molécules organiques avec lesquelles elles peuvent engager des interactions spécifiques (Kumar et Anand, 1998 ; Pratt-Terpstra et Busscher, 1998 ; Boyd *et al.*, 2000).

#### I.5.2. Adhérence réversible

Dans un milieu liquide ou exposé à l'humidité, l'approche des bactéries planctoniques d'une surface solide se produit par mouvement brownien, par sédimentation ou par mobilité active (présence de flagelles) (Høiby *et al.* 2011). Cette adhésion réversible est caractérisée par l'adsorption faible des cellules bactériennes sur la surface par des liaisons chimiques non covalentes. Ces liaisons entre la cellule et la surface d'attachement sont de type Van der Waals, électrostatiques répulsives, ou encore acide-base de Lewis dans ce cas la bactérie peut

alors être enlevée facilement par simple rinçage (Chmielewski et Frank, 2003). Elles font intervenir des macromolécules de surface, regroupées sous le terme d'adhésines (Costerton *et al.*, 1978; Costerton *et al.*, 1981), telles que des flagelles, des pili de type I et IV, des curli, des protéines, des polysaccharides ou encore des lipopolysaccharides (LPS) (Bellon-Fontaine *et al.*, 1996 ; Briandet *et al.*, 2012).

Cette étape est influencée par les conditions environnementales impliquant le potentiel d'hydrogène (pH), l'osmolarité, la température, la concentration d'oxygène et la quantité des nutriments et l'hydrodynamique des fluides (Beloïn *et al.*, 2008).

### **I.5.3. Adhérence irréversible**

Cette seconde adhésion correspond à une fixation spécifique des micro-organismes sur un support. Cette adhésion stable est rendue possible grâce à la sécrétion de polymères extracellulaires (Høiby, 2011) qui forment des ponts de fixation entre la cellule et la surface ou entre deux cellules. Ces exopolymères ont différents rôles, ils assurent l'attachement irréversible des micro-organismes à la surface, ils permettent le piégeage des éléments nutritifs nécessaires à la croissance bactérienne, et ils protègent également les micro-organismes des agressions de nature chimique ou biologique. Certaines espèces bactériennes ne sont pas capables de s'ancrer elles-mêmes, elles s'intègrent donc à d'autres espèces déjà installées en biofilm (Beloïn *et al.*, 2008).

Selon le type de micro-organisme, les structures d'adhésion vont varier. Pour l'adhésion des bactéries à Gram négative, seront impliqués les pili, les curli, les capsules et le glycocalix. Quant à l'adhésion des bactéries à Gram positive, ce sont les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix qui sont impliqués. D'autres structures peuvent également être impliquées. Le rôle de ces molécules de surface est de permettre d'établir le contact entre la cellule et une surface ou entre deux cellules (Van Houdt, 2005).

### **I.5.4. Développement précoce du biofilm**

Le stade de croissance est caractérisé par la prolifération de cellules bactériennes fixées à la surface, entraînant la formation de colonies qui couvriront partiellement ou complètement la surface (Tolker-Nielsen et Molin, 2000). Elles se rassemblent pour former des microcolonies et sont protégées par une matrice polysaccharidique extracellulaire (Jacobsen *et al.*, 2008).



### **I.5.5. La maturation du biofilm**

La croissance du biofilm correspond à la multiplication cellulaire, à la production d'EPS. La structure complexe du biofilm se produit avec la formation de canaux aqueux, et les pores entre les microcolonies (Folkesson et *al.*, 2008), permettent de procurer l'oxygène et les nutriments nécessaires à la croissance des micro-organismes et le traitement des déchets (Tenke et *al.*, 2006).

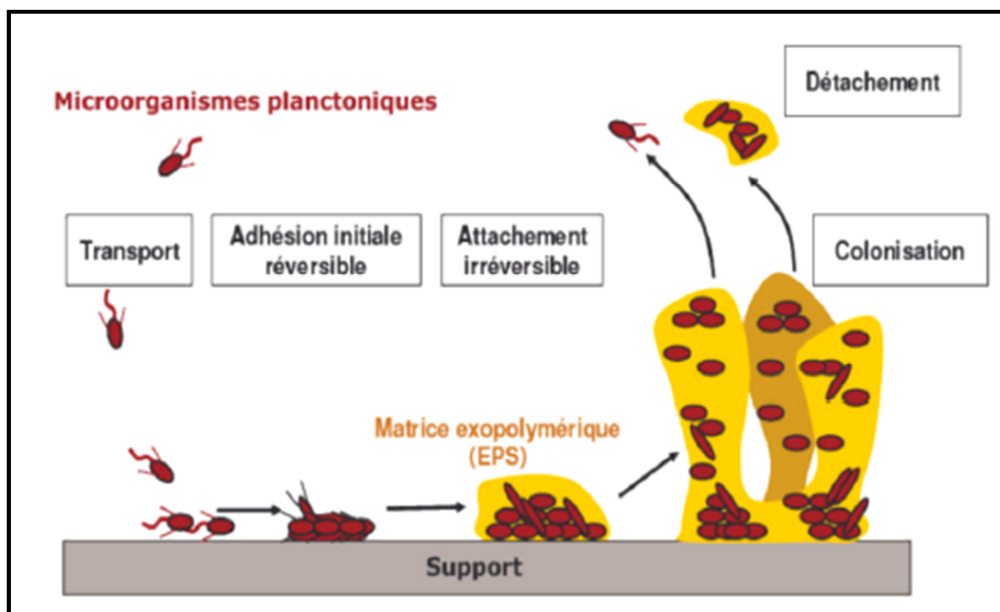
La production et la sécrétion d'enzymes ou de toxines peuvent entraîner une dégradation enzymatique dans la surface environnante, de sorte qu'il peut libérer des nutriments (Jacobsen et *al.*, 2008).

### **I.5.6. Le détachement du biofilm**

La phase de détachement est considérée comme l'étape finale qui complète le cycle du biofilm. Les bactéries sont séparées du biofilm et se propagent dans l'environnement (retour à l'état flottant). Traditionnellement, la séparation des bactéries est considérée comme un phénomène passif, notamment en fonction de la force d'écoulement du milieu dans lequel se trouve le biofilm. Cependant, l'isolement des bactéries peut également être une stratégie active, qui est déclenchée par les bactéries elles-mêmes, leur permettant de s'installer et de survivre sur de nouvelles surfaces lorsque l'espace et les nutriments deviennent limités.

Les bactéries peuvent se décomposer d'elles-mêmes, ou elles peuvent être décomposées en petits ou gros morceaux (Kaplan, 2010), selon le type de bactérie. Les bactéries ont un processus complexe impliquant des signaux environnementaux et une communication entre bactéries (Joshi et *al.*, 2010).

Par conséquent, le biofilm établi peut coloniser d'autres surfaces. (Joshi et *al.*, 2010).



**Figure 03.** Représentation schématique des différentes étapes menant à la formation biofilm (Filloux et Vallet, 2003).

### I.6. Le Quorum-Sensing

La formation de biofilm est contrôlée par des mécanismes de régulation tels que Quorum-Sensing (QS). Ce sont les mécanismes de contrôle au sein de la cellule (système de communication cellule à cellule), qui sont obtenus grâce à des signaux intercellulaires via des médiateurs chimiques, et dépendent du nombre de cellules présentes (mécanisme de détection de la densité cellulaire). Ces mécanismes reposent sur le principe de la masse critique (Costerton 1999, Tomlin et *al.*, 2005). Une fois que la concentration de la molécule signal atteint le seuil, le régulateur de transcription sera activé et contrôle des gènes spécifiques (Costerton et *al.*, 1999; Irie et Parsek, 2008). Le QS régule la physiologie des biofilms en ajustant la taille des biofilms en tenant compte des conditions environnementales. Il initie le phénomène de propagation et d'agrégation des bactéries planctoniques en biofilm (Irie et Parsek, 2008). Le QS aurait aussi un rôle dans l'épaisseur du biofilm, il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères ou certains facteurs de virulence extracellulaires, tels que les protéases (Tomlin et *al.*, 2005 ; Clutterbuck et *al.*, 2007; Irie et Parsek, 2008). Les molécules du QS peuvent également résister aux attaques d'autres organismes vivants, tels que les protozoaires (Queck et *al.*, 2006).

### I.7. Les conditions de développement d'un biofilm

L'attachement des micro-organismes à la surface dépendra de différents facteurs (Tableau I). Les micro-organismes se fixent de préférence sur la surface hydrophobe rugueuse avec le film de conditionnement. Lorsque le débit, la température moyenne et la concentration en nutriments augmentent, cela aidera à les réparer. L'hydrophobicité de la surface cellulaire, la présence de fimbriae et des flagelles et la production de polysaccharides extracellulaires affectent l'attachement des bactéries à la surface (Donlan, 2002).

**Tableau I.** Les différents facteurs affectant le flux de travail et la croissance des microorganismes dans les biofilms (Donlan, 2002).

<i>Propriétés de la surface/support</i>	<i>Propriétés du milieu</i>	<i>Propriétés de la cellule</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Texture de la surface</li> <li>✓ Rugosité de la surface</li> <li>✓ Hydrophobicité de la surface</li> <li>✓ Présence d'un film</li> <li>✓ Conditionnant à la surface</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Vitesse du flux</li> <li>✓ pH</li> <li>✓ Température</li> <li>✓ Cations présents dans le milieu (<math>\text{Ca}^{2+}</math>, <math>\text{Na}^{2+}</math>, <math>\text{Fe}^{3+}</math>)</li> <li>✓ Concentration en Fer et en nutriments</li> <li>✓ Sources de carbone disponibles</li> <li>✓ Disponibilité en oxygène</li> <li>✓ Présence d'agents anti-microbiens</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hydrophobicité de la surface des cellules</li> <li>✓ Présence d'appendices (fimbriae, flagelles)</li> <li>✓ Molécules de surface</li> </ul>

### I.8. Effets de biofilms

#### I.8.1. Effets bénéfiques

Le biofilm joue un rôle positif dans notre santé, la surface de notre peau est recouverte de biofilm, la présence de biofilm provoquera une compétition microbienne, ce qui rend la colonisation par les microorganismes pathogènes plus difficiles (Percival et *al.*, 2012). Les biofilms gastro-intestinaux assurent également un rôle de protection et participent au processus de digestion (Macfarlane et *al.*, 2011).

Ils jouent également un rôle clé pouvant être très utiles dans l'industrie alimentaire ; nous citons l'exemple de la production d'éthanol dans des réacteurs dans lesquels des levures *Saccharomyces cerevisiae* sont immobilisées sous forme de biofilm. Ainsi dans la production du vinaigre (acide acétique) (Alnnasouri, 2010).

#### I.8.1. Effets néfastes

Les déclencheurs de biofilm peuvent causer de graves problèmes de santé par exemple

- L'émergence des bactéries pathogènes malgré les procédures de nettoyage et de désinfection.
- Les biofilms posent divers problèmes en médecine, nous citons les bactéries pathogènes se développant dans le système digestif, urinaire et respiratoire, aussi dans les implants ou tuyaux dans les opérations médicales.
- L'implantation de biofilm dans les réseaux de canalisations d'eau est également l'un des problèmes importants rencontrés dans les réseaux d'eau (Block *et al.*, 1993).
- Le biofilm peut être responsable de la réduction de la qualité des aliments, et de la contamination des équipements de l'industrie agro-alimentaire (Fournaud et *al.*, 1978).
- La formation de biofilm sur les plaques de certains échangeurs de chaleur à température de base dans l'industrie alimentaire réduira leur capacité de transfert thermique, et augmentera la pression de la pompe en raison de la réduction de son diamètre de tuyau (Characklis et *al.*, 1980 ; Hamilton, 1987).

## **Chapitre II : les biofilms dans les industries agro-alimentaires**

### II.1. Définition de l'industrie agroalimentaire

On entend par industrie agro-alimentaire (IAA), l'ensemble des industries de transformation des matières premières, d'origine végétale ou animale, en produits destinés à l'alimentation humaine ou animale. Derrière cette définition, apparemment simple du secteur, il faut prendre en compte la très grande hétérogénéité des produits et la complexité des relations au sein des filières. Cette définition ne comprend pas dans son sens strict ni les producteurs de matières premières, ni les activités périphériques engrais, machines agricoles, services spécifiques.

Par denrée alimentaire, il faut retenir la définition suivante : « Toute substance ou produit, transformé, partiellement transformé ou non transformé, destiné à être ingéré ou raisonnablement susceptible d'être ingéré par l'être humain » (Bernade et Leclercq, 2005).

### II.2. Types d'industries agro-alimentaires

#### II.2.1. Industrie céréalière

L'Algérie est l'un des plus grands pays consommateurs de céréales au monde. L'activité de la filière est principalement orientée vers la production de farine et de semoule. Le travail des grains concerne les entreprises de première transformation des céréales telles que le blé, le maïs, en farines ou semoules. Les produits issus de ces entreprises peuvent ensuite être utilisés dans des usines de seconde transformation : panification, alimentation animale, etc.

#### II.2.2. L'industrie des produits laitiers

L'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb (Recham, 2015). L'industrie des produits laitiers est l'industrie qui achète le lait cru réfrigéré principalement de vache ou de brebis et chèvre aux éleveurs pour le transformer en produits laitiers (yaourt, beurre, etc) ou des sous-produits (poudre de lait).

#### II.2.3. L'industrie des boissons (BRSA, jus, eaux en bouteilles)

Cette industrie couvre deux grands groupes et huit sous-groupes. Le groupe des boissons non alcooliques ; elle comporte les sirops, les eaux et les boissons sans alcool, les jus de fruit, ainsi que le café et le thé. Le groupe des boissons alcooliques comprend les spiritueux, le vin et la bière (Recham, 2015).

### **II.2.4. L'industrie sucrière**

L'industrie qui produit du sucre à partir de plantes telles que la canne à sucre ou la betterave.

### **II.2.5. L'industrie des fruits et légumes**

Leurs principaux produits sont des fruits et des légumes en conserve, surgelés ou conservés d'autres manières, des jus de fruits et de légumes, des soupes, des marinades, des confitures, des gelées et des marmelades, du cidre, des sauces et du vinaigre (Recham, 2015).

### **II.2.6. L'industrie de la viande**

Désigne l'ensemble des activités industrielles agroalimentaires spécialisées dans la transformation des animaux d'élevage dévolus à l'alimentation humaine. Cela va de l'abattage-découpe-stockage des animaux devenant carcasses bouchères à la viande prête à être cuite, et autres plats cuisinés à base de viande.

### **II.2.7. Industrie des aliments pour les animaux**

L'alimentation animale joue un rôle déterminant dans l'industrie alimentaire mondiale et permet de produire, partout dans le monde, des denrées alimentaires d'origine animale d'une manière économiquement viable. Ces aliments peuvent être fabriqués soit par des entreprises industrielles, soit par simple mélange sur le lieu de production. Il existe différents termes pour désigner ces aliments que l'on peut qualifier de «aliments industriels», «aliments formulés», «aliments en mélange» ou encore «aliments composés». Une fois fabriqués, ces aliments sont utilisés pour nourrir et couvrir les besoins nutritionnels des animaux en fibres et autres produits, et ce, dans des conditions d'élevage très diverses.

### **II.2.8. Industrie du poisson**

L'industrie de la pêche comprend toute industrie ou activité liée à la prise, à la culture, à la transformation, à la conservation, au stockage, au transport, à la commercialisation ou à la vente de poisson ou de produits de la pêche (FAO, 2016).

### II.3. Contexte général sur les biofilms dans l'industrie agroalimentaire

La recherche sur les biofilms dans les industries agroalimentaire se situe en grande partie dans le domaine de la sécurité alimentaire, Presque toutes les branches de l'industrie agroalimentaire. Les biofilms causent des pertes annuelles de plusieurs millions de dollars (Brook et Flint, 2008). Leur formation sur les surfaces en contact avec les aliments est presque inévitable, et elles sont favorisées par les conditions qui prévalent dans les entreprises de transformation alimentaire.

Le biofilm industriel est la source des problèmes affectant l'hygiène alimentaire et la qualité de l'hygiène des produits et matériaux transformés. En France, 40% des maladies d'origine alimentaire sont considérées comme liées aux biofilms même s'ils ne contiennent que des bactéries inoffensives, ils peuvent constituer une menace pour la santé car ils constituent un refuge pour les agents pathogènes (Lequette et *al.*, 2010 ; Vlkova et *al.*, 2008).

### II.4. Problèmes liés aux biofilms dans les industries

De nombreuses surfaces non biologiques sont rencontrées dans l'industrie alimentaire, comme le verre, l'acier inoxydable et même le plastique, le caoutchouc, le titane, l'aluminium ou la céramique (Abdallah et *al.*, 2014). Comme mentionné précédemment, de nombreux facteurs affecteront l'adhérence, ce qui à son tour affecte la formation de biofilm. Une fois les biofilms formés, ils sont généralement difficiles à éliminer car ils peuvent atteindre plusieurs couches d'épaisseur variable centimètres (Trachoo, 2003; Shi et Zhu, 2009).

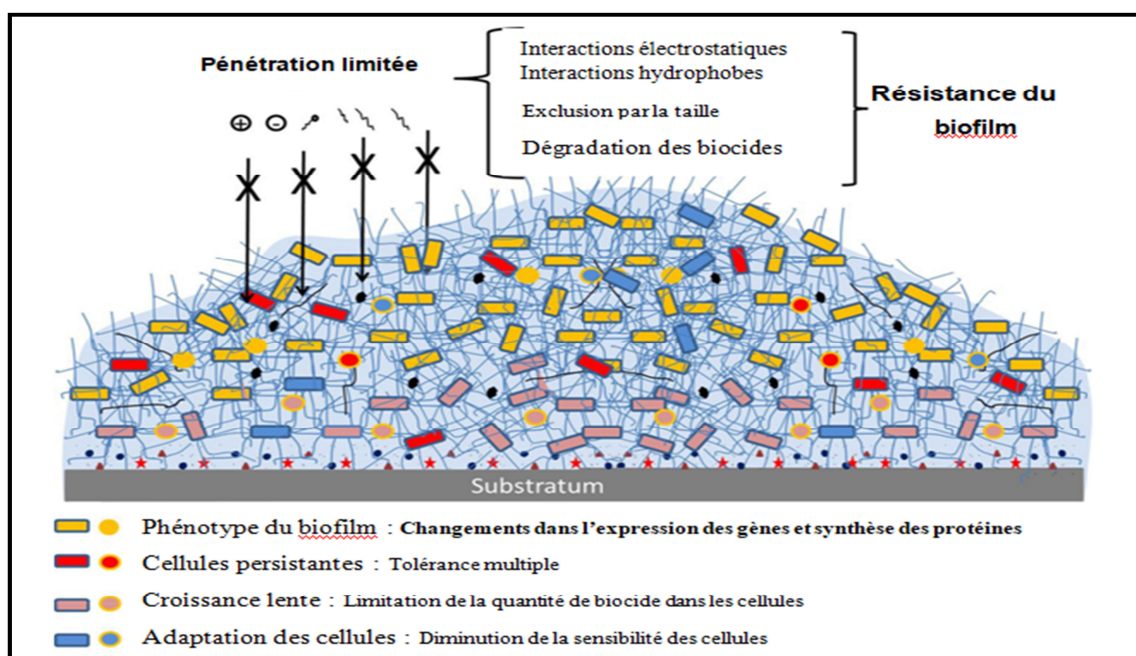
La contamination de surface, notamment par la présence des biofilms dans l'industrie agroalimentaire, occasionne des problèmes d'hygiène et joue un rôle dans la persistance des bactéries pathogènes dans l'IAA (Bridier et *al.*, 2015)

Les environnements des IAA plutôt humides constituent un environnement propice à la formation et au développement des biofilms. En effet, ces surfaces peuvent être recouvertes de matières organiques comme les protéines de lait ou de viande, parfois du sang, ce qui peut favoriser l'adhésion des bactéries. Les microorganismes sont retrouvés dans les industries dans les différentes étapes de transformation, les bactéries faisant partie intégrante des matières premières. Ces dernières se forment là où le nettoyage n'est pas approprié, c'est-à-dire, au niveau des courbures ou des jointures, les joints d'étanchéité sont par exemple des surfaces où s'accumulent les saletés constituant un lieu propice au développement de biofilm (Shi et Zhu, 2009; Giaouris et *al.*, 2014).



Le biofilm présents sur des surfaces, soit ouvert ou fermé, va engendrer de graves problèmes de santé. Les bactéries du biofilm sont entourées d'une matrice extracellulaire. Cette structure permet aux bactéries d'être moins sensibles à l'utilisation des biocides. La résistance des cellules des biofilms aux agents antibactériens est bien supérieure à celle des mêmes cellules à l'état flottant (Giaouris et *al.*, 2014).

En effet, les biocides ne sont pas capables de pénétrer au sein des couches de bactéries et de composés de la matrice, limitant ainsi l'efficacité de la substance chimique. En plus de la faible pénétration des biocides au sein du biofilm, il est possible que les agents désinfectants réagissent de manière importante avec les composés de la matrice (protéine, polysacch des) plutôt qu'avec les bactéries présentes, un gradient de concentration de biocides qui crée à l'intérieur du biofilm (Figure 04) (Bridier et *al.*, 2011).



**Figure 04.** Mécanismes développés par le biofilm pour résister à l'action d'agents antimicrobiens (Abdallah et *al.*, 2014).

Dans ces modes d'interaction et de communication, les bactéries utilisent la détection de quorum. Elle consiste en la production et la sécrétion de molécules signal. Ces molécules sont appelées auto-inducteur et sont synthétisées par des enzymes. Le nombre de molécules signal est directement lié à la densité cellulaire. Les bactéries existantes détectent ces signaux, et en réponse à ces signaux, elles régulent l'expression de certains gènes (Li Hetian, 2012). De nombreuses bactéries ont plusieurs voies de détection de quorum qui sont souvent connectées

les unes aux autres. Cette détection permet de coordonner et de réguler les activités collectives de toutes les bactéries. En plus de former des biofilms, les bactéries peuvent également utiliser ce système de communication pour l'émission de bioluminescence, la production de facteurs de virulence, la mobilité, le transfert d'acide désoxyribonucléique (ADN) ou la synthèse à nouveau des produits extracellulaires. De cette façon les bactéries sont capables d'avoir une activité collective et sont capables de résister aux différentes stratégies employées pour lutter contre leur présence (Bai et Rai, 2011; Doberva, 2016).

### II.5. Méthodes de détection des biofilms

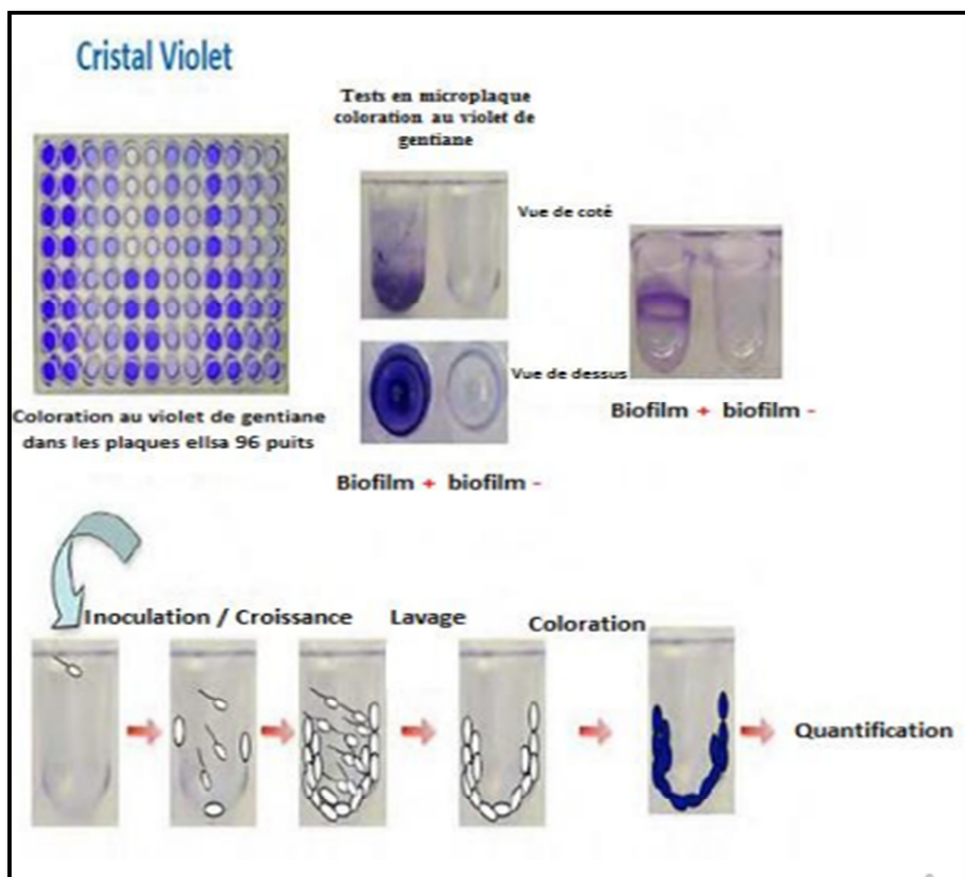
Il existe une variété de méthodes pour détecter la production des biofilms, notamment: la méthode de la plaque de culture tissulaire (TCP), méthode du tube à essai (TM), test du milieu rouge Congo (RCA), et la technique de Biofilm Ring Test (BFRT).

#### II.5.1. Méthode de plaque de culture de tissus

La méthode de la plaque de culture tissulaire décrite par O'Toole *et al.* (2000) permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm (Bellifa, 2014).

Le biofilm d'espèce unique peut être formé sur un support en polystyrène à l'aide des microplaques à 96 puits. A partir d'une culture de 18 heures dans le bouillon infusion cœur cerveau (BHIB), les puits d'une microplaque de 96 puits sont inoculés avec des bactéries, puis incubés par la suite pendant 24 heures à 37°C. Les puits sont lavés trois fois avec de tampon phosphate salin (PBS) (Figure05). Le biofilm formé ainsi par l'adhésion de bactéries sessiles est coloré par le cristal Violet (CV) à 0,1%. En fonction de la lecture des densités optiques (DO) de la phase biofilm, les bactéries sont classées comme suit :

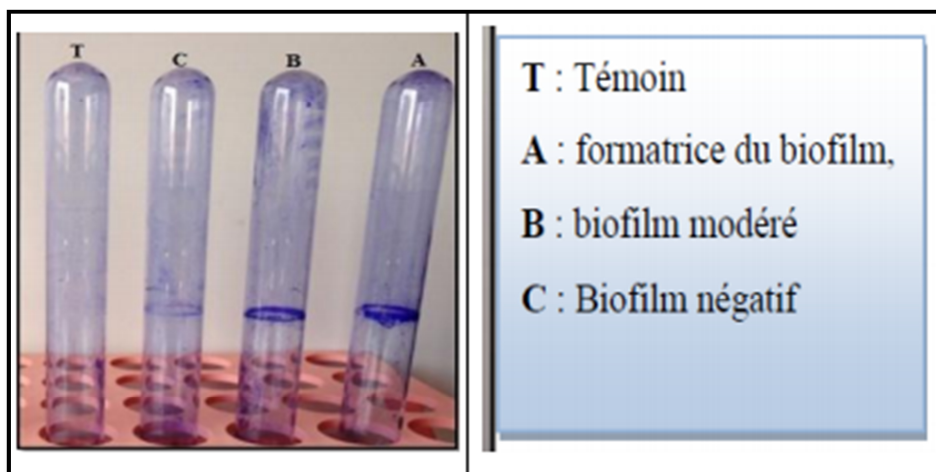
- ✓ Non formatrices du biofilm,
- ✓ Formation modérée,
- ✓ Fortement formatrice du biofilm (Mathur *et al.*, 2006 ; Bellifa, 2014).



**Figure05.** Formation de biofilm en microplaque (Bellifa, 2014).

### II.5.2. Méthode en tube

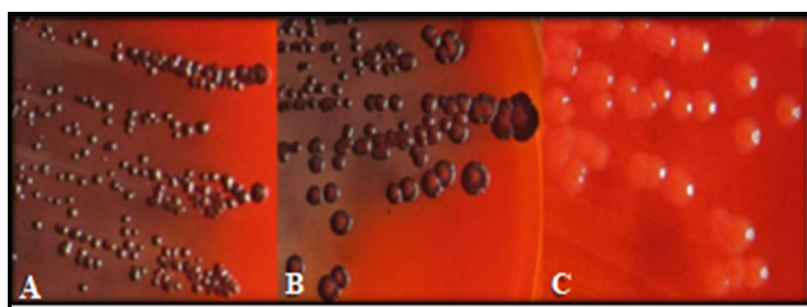
C'est une technique qui peut faire une évaluation qualitative de la formation de biofilm (Christensen, 1982 ; Kara Terki, 2014). A partir d'une culture de 18 à 24 heures, une colonie estensemencée dans de BHIB supplémenté de saccharose puis incubé à 37°C pendant 24 h. Les tubes sont lavés avec du PBS puis séchés. Chaque tube est ensuite coloré par le CV (Figure06). La formation du biofilm est considérée comme positive lorsqu'un film visible recouvre le mur et le bas du tube comme la figure montre (Mathur et *al.*, 2006 ; Alnnasouri, 2010 ; Djelloul Daouadji, 2010 ; Bellifa, 2014).



**Figure 06.** Evaluation de la production de biofilm par la méthode TM (Bellifa, 2014).

### II.5.3. La culture sur rouge congo agar

Selon les recherches de Freeman et *al.* (1989), la gélose rouge congo est très appropriée pour la détection de souches productrices de slime (Nagaveni et *al.*, 2010; Kara Terki, 2014) (Figure07). Sur ce milieu, les souches exprimant le Polysaccharide Intercellular Adhesion (PIA) donnent des colonies noires contre des colonies de couleur rouge pour les souches PIA négatives. Les souches à phénotype variable donnent des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir (Mathur et *al.*, 2006; Rewatkar et Wadher, 2013 ; Bellifa, 2014).



**Figure 07.** Culture sur la gélose Rouge Congo.

- (A) RCA-positive souche de *S. epidermidis* (colonies noires),
- (B) RCA-positive souche de *S. aureus* (colonies noires),
- (C) RCA-négative souche de *P. aeruginosa* (colonies rouges) (Hou et *al.*, 2012).

### II.5.4. Le biofilm Ring Test

Une nouvelle technique de détection et d'évaluation quantitative des biofilms ; le Biofilm Ring Test (BFRT) technique décrite par Chavant et *al.* (2007), et développée par la société Biofilm Control. Cette méthode devait permettre de suivre la formation de biofilm d'une façon simple et rapide, sans étapes de lavage ni de coloration (Figure 08) (Perrin, 2009). Elle permet de suivre de façon simple et rapide l'immobilisation de billes magnétiques par les cellules bactériennes adhérant au fond du puits. Plus les billes seront piégées, moins elles se déplaceront dans le champ magnétique et moins elles se regrouperont au centre du puits. L'immobilisation des billes est secondaire soit au fait qu'elles sont «piégées» par des bactéries qui adhèrent au fond du puits, soit au fait que les propriétés rhéologiques du milieu sont modifiées (Liesse Iyamba, 2012 ; Nagant, 2013).

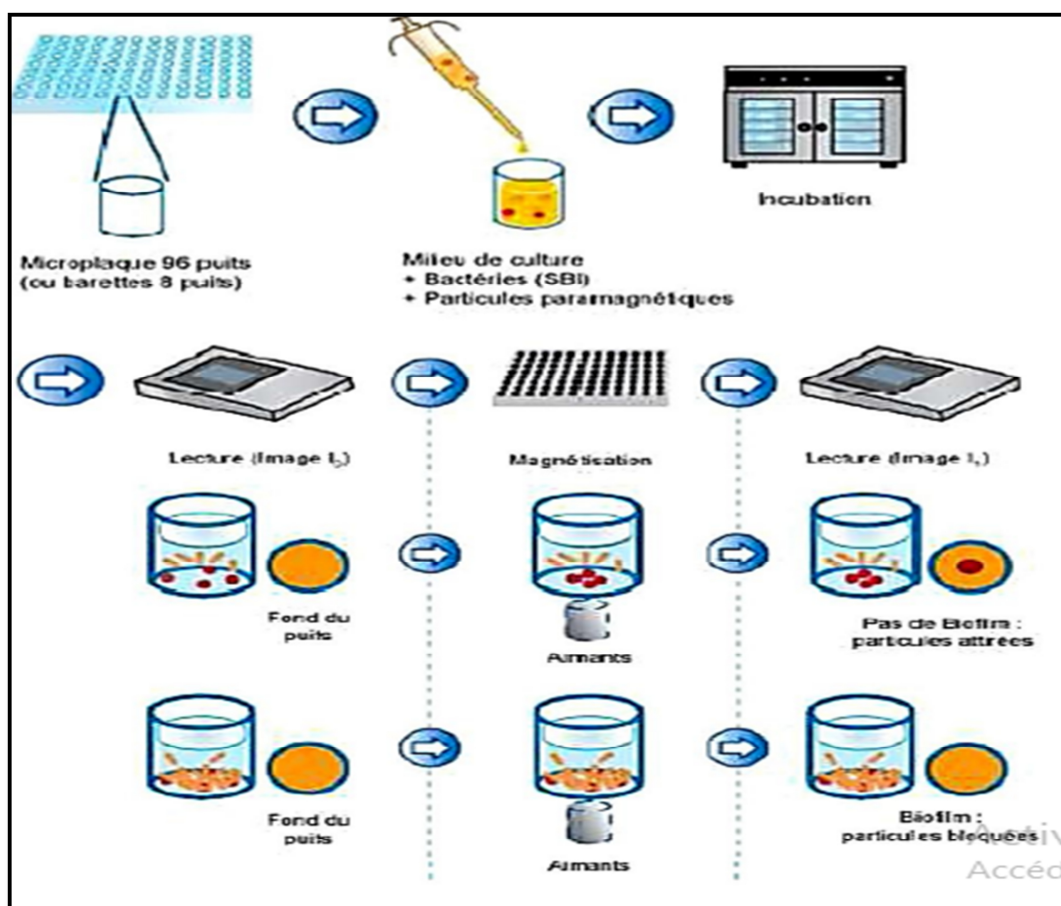


Figure 08. Le principe du Biofilm Ring Test (Perrin, 2009).

### II.6. Modèles des biofilms industriels

La présence de biofilm dans l'industrie alimentaire est un réel problème. En effet, leur présence présente un risque de contamination des aliments et donc un risque pour la santé des consommateurs. Les biofilms peuvent être présents sur différentes surfaces dans l'industrie agroalimentaire, au sein de l'atelier de production (équipements, murs, sols, circuits d'eau, aération). La majorité des espèces bactériennes étudiées en laboratoire forment des biofilms.

Les bactéries modèles les plus étudiées sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus sp*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae* (Roux, 2006 ; Lezzoum-Atek et *al.*, 2019).

Deux types de biofilms sont rencontrés dans les ateliers : les biofilms dits « négatifs » et les biofilms dits « positifs »

#### II.6.1. Biofilm Négatif

Les biofilms négatifs sont indésirables, formés généralement de bactéries pathogènes, dangereuses du point de vue sanitaire et causent de sérieux problèmes comme les Toxi Infection Alimentaire Collective (TIAC).

##### II.6.1.1. *Listeria monocytogenes*

C'est une bactérie à Gram positif qui se présente sous forme de petits bacilles de forme régulière, avec des extrémités arrondies, sans spores, et avec des flagelles péritriches. Elle peut se multiplier à des températures de 20-30 °C, et elle est non mobile au-dessus de 37°C. *Listeria monocytogenes* est l'agent pathogène de la listériose et l'un des agents pathogènes d'origine alimentaire, largement répandu dans l'environnement (Brisabois et *al.*, 2009). Cette bactérie peut provoquer une méningite et une septicémie, en particulier chez les personnes immunodéprimées et les femmes ayant subi un avortement. Plusieurs études ont montré que *Listeria monocytogenes* peut adhérer à diverses surfaces dans les ateliers agroalimentaires, notamment l'acier inoxydable (Lezzoum-Atek et *al.*, 2019), le marbre, le gel de silice, le plastique et le caoutchouc (Leriche et *al.*, 1999). Les flagelles jouent un rôle important dans l'adhésion initiale des cellules à la surface et la formation de biofilms (Colagiorgi et *al.*, 2017). Une fois fixées, ces cellules peuvent produire des biofilms multicellulaires organisés en structure complexe dans lesquelles les cellules sont intégrées dans une matrice d'EPS.



### II.6.1.2. *Escherichia coli*

Ces bactéries forment un groupe de bacilles à Gram négatif, mobiles, pouvant se multiplier à des températures comprises entre 4°C et 46°C, et se développer mieux à 44°C (Brisabois et *al.*, 2009). Cette bactérie colonise la surface inerte des matériaux industriels (agroalimentaire), quelle que soit sa composition : inox, métal, polystyrène, cuivre, etc. (Sharma et *al.*, 2016).

Lorsque les flagelles augmentent l'interaction, la formation de biofilm se produit entre *E. coli* et la surface qui fournit le premier contact de surface cellulaire pour l'adhésion.

Les organites collants tels que les fimbriae type I et les fimbriae bouclés, jouent également un rôle dans l'attachement irréversible d'*E. coli* à la surface (Pratt et Kolter, 1998). *Escherichia coli* O157: H7 est le plus incriminé dans les toxi-infections alimentaires, avec un taux de létalité variant de 3 à 5% (Brisabois et *al.*, 2009).

### II.6.1.3. *Staphylococcus* sp

Cocci à Gram positif, groupés généralement en grappes, immobiles, anaérobies facultatifs, possédant une catalase. Une étude a montré que le Staphylocoque à coagulase positive (*S. aureus*) était détecté dans 38% des fromages de chèvre crus produits à la ferme, cela a été lié à la présence de biofilms sur la surface du matériel de ferme (Jørgensen et *al.*, 2005). *Staphylococcus aureus* a des propriétés invasives, telles que l'adhérence aux surfaces non biologiques (abiotique), qui sont affectées par les composants de la paroi bactérienne, tels que l'acide téichoïque et les protéines de surface, y compris l'adhésine qui permet aux cellules bactériennes d'adhérer fermement (Tremblay et *al.*, 2014). Les aliments contaminés par ce germe constituent ainsi une menace pour la santé humaine, du fait que *Staphylococcus aureus* peut provoquer une intoxication alimentaire par ingestion d'aliments contenant des entérotoxines préformées. Cette intoxication est caractérisée par une courte durée d'incubation (1 à 6 heures après ingestion), des crampes abdominales douloureuses, des diarrhées, des vomissements et l'absence de fièvre (Brisabois et *al.*, 2009).

### II.6.1.4. *Bacillus cereus*

Bacille à Gram positif, sporulé, et mobile grâce aux flagelles péritriches. Cette bactérie est capable de former des biofilms qui se trouvent généralement sur les surfaces du matériel en acier inoxydable, en verre et en polystyrène dans l'environnement agroalimentaire (Cardazzo *et al.*, 2008 ; Wijman *et al.*, 2007).

Les spores de *B. cereus* sont très résistantes à de nombreuses pressions et sont très hydrophobes ce qui facilite leur adhésion aux équipements de transformation et de production des aliments (Wijman *et al.*, 2007). L'ingestion de ce micro-organisme provoque deux types d'intoxication alimentaire : une diarrhée causée par les entérotoxines thermolabiles pendant la multiplication dans l'intestin grêle (Cardazzo *et al.*, 2008), et des vomissements causés par les toxines formées dans les aliments (Wijman *et al.*, 2007).

### II.6.2 Biofilm Positif

Outre tous ces aspects négatifs, qui sont les plus évoqués quand il s'agit de biofilms, des aspects positifs existent. Certaines propriétés bactériennes peuvent être utilement exploitées afin d'en tirer avantage dans de nombreux domaines.

les biofilms jouent un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes en participant notamment au cycle du carbone, de l'eau (Roux, A *et al.*, 2006).

#### II.6.2.1. Levures

plusieurs auteurs (Demirci *et al.*, 1997 ; Todd et Gerald, 2001) ont décrit l'immobilisation de *Saccharomyces cerevisiae* sous forme des biofilms, qui sont également utilisés pour produire du vinaigre (acide acétique). Le réacteur à biofilm est également utilisé dans la production d'antibiotiques comme la pénicilline (Park et Wallis, 1984).

#### II.6.2.2. Bactéries lactiques

Les biofilms de bactéries lactiques sont utilisés dans l'industrie des produits laitiers et dans les exploitations agricoles comme moyen (biologique) de prévention de l'adhésion de bactéries pathogènes et de bactéries d'altération (Leriche *et al.*, 2000 ; Ibrahim *et al.*, 2004 ; Ait Meddour *et al.*, 2014).



Les bactéries lactiques forment un groupe bactérien largement répandu dans la nature, phylogénétiquement très hétérogène et bénéficient du statut GRAS (Generally Recognised As Safe) (Klaenhammer et *al.*, 2005 ;Burgain et *al.*, 2014).

Les bactéries lactiques interviennent dans de nombreuses industries, les différentes applications de ces dernières en alimentaire reposent sur l'utilisation de 9 genres-clef: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Weissella* (Burgain et *al.*, 2014).

### **a) *Lactobacillus***

Les lactobacilles appartiennent à la flore normale de la cavité buccale, urogénitale et du tractus gastro-intestinal de l'homme et de l'animal. Ils sont utilisés dans différentes fermentations alimentaires, par exemple dans l'industrie laitière pour la production de fromages, de yaourts et autres produits laitiers fermentés (Pelletier et *al.*, 1997).

La formation de biofilms par les lactobacilles a été rapportée par Lebeer et *al.* (2007) et Kubota et *al.* (2008 ; 2009) qui ont démontré que *Lactobacillus rhamnosus* est capable de former des biofilms sur du polystyrène. D'autres auteurs (Lebber et *al.*, 2007 ; Fujii et *al.*, 2008) ont même décrit les gènes responsables de l'adhésion et de la formation de biofilms par cette souche, ainsi que par *Lactobacillus Plantarum*.

### **b) *Enterococcus***

Les *Enterococcus* sont des agents pathogènes opportunistes qui causent diverses infections. Ce fait est lié à la résistance de certaines souches aux antibiotiques, en particulier à la vancomycine (Semodo et *al.*, 2003). Malgré cela, les entérocoques sont toujours présents dans de nombreux aliments, en particulier les aliments d'origine animale, comme les saucisses, le lait et les fromages traditionnels comme le Manchego et Mozzarella (Coppola et *al.*, 1998),

Plusieurs souches d'entérocoques peuvent produire des bactériocines appelées entérocoques, comme *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus casseliflavus*. Ces entérocoques ont une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Sabia et *al.*, 2002).

Ait Meddour en (2015) a prouvé que les souches d' *Enterococcus faecium*, d' *Enterococcus durans* et d' *Enterococcus lacti* sont une activité antibactérienne contre *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, et peuvent former des biofilms sur des supports non biologiques et empêcher la formation de ces derniers.

### c) *Lactococcus*

Les lactocoques sont liés à la fermentation de nombreux aliments. Les produits végétaux sont leur principal dépôt, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers. Il est bien connu que les bactériocines sont largement produites par des bactéries lactiques dont le lactocoque fait partie, ils peuvent donc jouer un rôle dans le contrôle de la colonisation des surfaces en contact avec les aliments par des agents pathogènes. En effet, les bactéries lactiques qui produisent la nisine ont un effet inhibiteur sur l'adhésion de *Listeria monocytogenes* à la surface de l'acier inoxydable (Leriche et al. 1999).

## **Chapitre III: les biofilms dans domaine médical**

Le biofilm est une cause répandue d'infections humaines. En effet, 65%des infections sont causées par des biofilms. Plus de 80 % sont des infections bactériennes chroniques liées à la présence des biofilms (Chalvet de Rochemonteix, 2009).

La formation des communautés sessiles et leur résistance inhérente aux agents antimicrobiens sont à la base de nombreuses infections bactériennes persistantes et chroniques. Ces infections peuvent être causées par une seule ou plusieurs espèces de bactéries ou des moisissures (Tableau II).

**Tableau II.** Liste partielle d'infections humaines impliquant des biofilms  
(Costerton et *al.*, 1999).

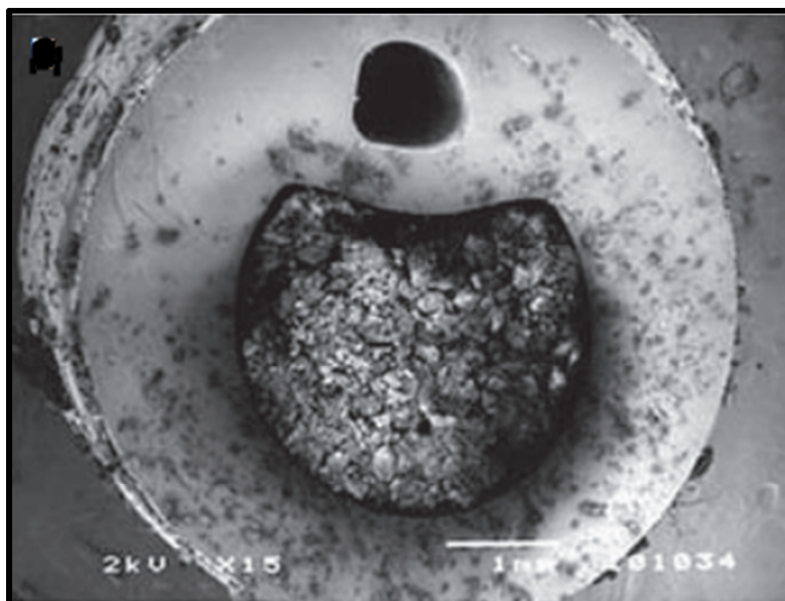
<i>Infections</i>	<i>Espèces bactériennes communément impliquées</i>
Caries dentaires	Cocci à Gram positif acidogènes ( <i>Streptococcus spp</i> )
Périodonties	Bactéries anaérobies orales, à Gram négatif
Otites moyennes	Souches d' <i>Haemophilus influenzae</i>
Mucoviscidose pulmonaire	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Burkholderia cepacia</i>
Endocardites	<i>Streptococcus sp.</i> et <i>Staphylococcus spp.</i>
Ostéomyélites	Plusieurs espèces bactériennes et fongiques souvent mixés
Infections biliaires	Bactéries entériques ( <i>Escherichia coli</i> )
Prostatites bactériennes	<i>Escherichia coli</i> et autres bactéries à Gram négatif

#### III.1. Les biofilms sur les dispositifs médicaux

Dans la nature, les microorganismes ont une tendance naturelle à adhérer aux surfaces. Il est de même dans le domaine médical au niveau des prothèses et des implants (Herard, 1998). Parmi les dispositifs médicaux pouvant former des biofilms (Donlan, 2001) :

- Les cathéters centraux veineux
- Lentilles de contact
- Tubes endotrachéals

- Les stérilets
- Les joints prosthétiques
- Les sondes urinaires (Figure09).



**Figure09.** Une coupe transversale d'une sonde urinaire en silicone à demeure (lumière centrale est obstruée par un biofilm cristallin) (Stickler, 2008).

#### Exemples

- **Biofilm produit par *Pseudomonas aeruginosa***

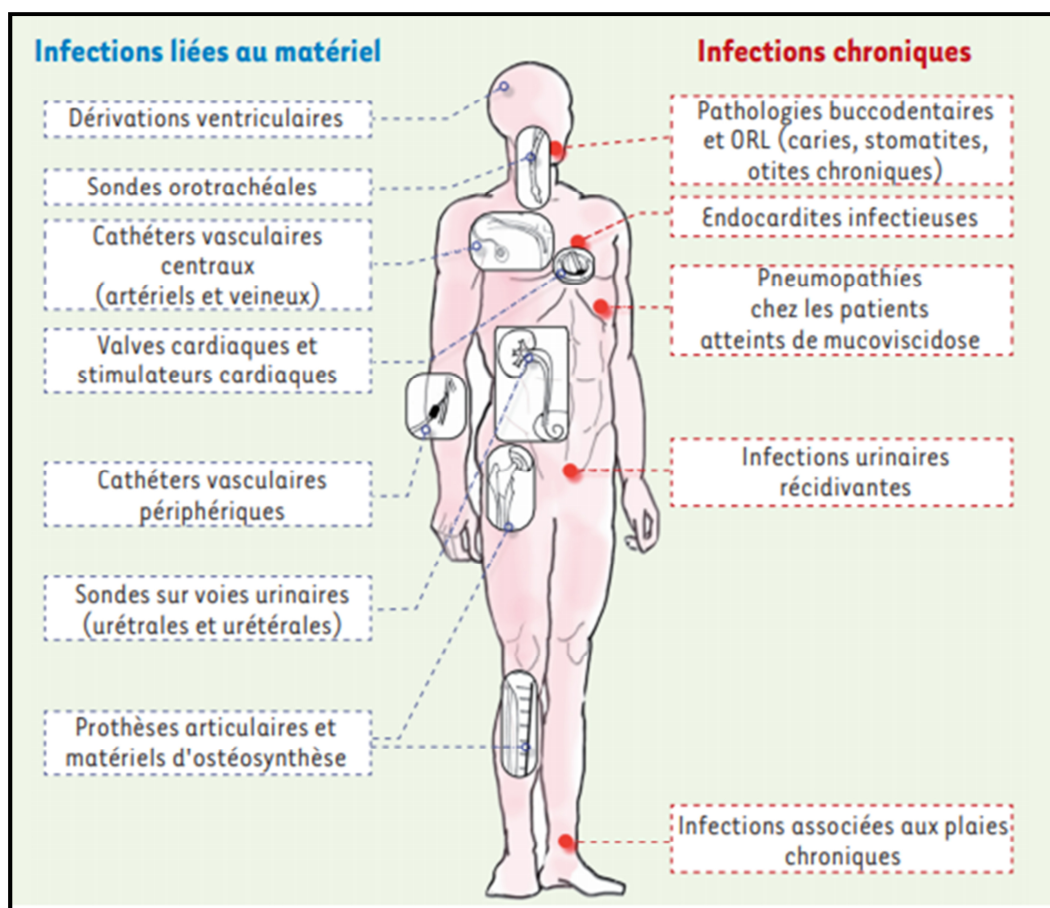
*Pseudomonas aeruginosa*, comme d'autres bactéries à Gram négatif, produit des agrégats structurés ou biofilm immobilisé par la matrice (EPS) (Khalilzadeh, 2009). Ce dernier est principalement composé d'un mélange d'alginate (exopolysaccharide), de polysaccharide, de protéine et de rhamnolipide (Pecastaings, 2010 ; Ben Haj Khalifa *et al.*, 2011). Une fois que la bactérie s'implante avec succès, elle doit y survivre, malgré la présence de défenses innées et acquises de l'hôte et événements répétés de traitement d'antibiotique pour une formation réussie de biofilm (Ben Haj Khalifa *et al.*, 2011).

#### ▪ Biofilm produit par *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella* a une capacité importante à former des biofilms, surtout sur les plastiques. Cathéter urinaire, qui est considéré comme l'un des principaux facteurs responsables infection nosocomiale qui rend le traitement antibiotique inefficace (Chhibber et *al.*, 2013). La formation de biofilm est passée par Q.S il est synthétisé à partir de l'inducteur (AL-2) et possède un gène homologue à *E. coli*. L'expression des fimbriae de *Klebsiella* type 1 et type 3 augmente sa capacité à former un biofilm puissant, (Stahlhut et *al.*, 2012).

#### III.2. Infections liées aux biofilms

Plusieurs infections chroniques caractérisées par leur difficulté thérapeutique, l'impossibilité de stériliser certains foyers d'infection et le risque élevé de récurrence sont également considérées comme des infections liées aux biofilms (Figure10).



**Figure10.** Principales infections associées aux biofilms. (Lebeaux et *al.*, 2016).

### III.2.1. Infection associées aux plaies

On estime que 1 à 2% de la population dans les pays développés souffrent de plaies chroniques, telles que des ulcères de jambe ou des complications cutanées liées au Diabète. 60% d'entre elles (contre 6% des plaies aiguës) sont colonisées par des bactéries ou des champignons sous forme de biofilm multi microbien résistant aux antibiotiques, qui ralentit ou empêche la cicatrisation en favorisant un état d'inflammation chronique (James et *al.*, 2008).

### III.2.2. Mucoviscidose

Il s'agit d'une maladie génétique autosomique récessive qui touche environ 35 000 enfants et jeunes en Europe. causée par les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Lyczak et *al.*, 2002) qui sont capables d'infecter de manière durable les poumons en se montrant extrêmement résistantes aux antibiotiques les plus puissants. De plus, le système immunitaire de ces individus atteints répond de façon excessive à cette infection. Ce haut degré de résistance associé à la nocivité de la réponse immunitaire sont caractéristiques des biofilms bactériens. Les biofilms sont des réseaux de communication bactérienne enveloppée de sécrétions visqueuses. Les bactéries produisent des signaux chimiques qui vont leur permettre de communiquer entre elles. A une densité critique, ces signaux vont s'accumuler et déclencher l'expression d'un ensemble de gènes spécifiques, avec comme conséquence la formation de biofilm (Singh et *al.*, 2000 ; Soussereau, 2012).

### III.2.3. Infections urinaires récidivantes

Classiquement attribué à de multiples épisodes de néocolonisation à partir du tube digestif, des travaux récents réalisés sur un modèle marin ont montré que *Escherichia coli*, uro-pathogène des voies urinaires est capable de coloniser les cellules épithéliales de la vessie, et de former de gros agrégats intracellulaires entourée d'une matrice correspondant au biofilm, cette matrice constituera le réservoir de bactéries pathogènes pour chaque épisode infectieux (Cystite, pyélonéphrite) (Justice et *al.*, 2006).

### III.2.4. Pathologies buccodentaires et oto-rhino-laryngologie (partie de la médecine qui s'occupe des maladies de l'oreille, du nez et de la gorge)

Il a été prouvé que grâce à des échantillons cliniques et des modèles in vivo, des bactéries qui causent des otites moyennes chroniques (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*) ont une structure typique des biofilm. Cette observation a permis de comprendre une partie des difficultés rencontrées dans le traitement thérapeutique. Ces situations cliniques nécessitent souvent une prise en charge chirurgicale (Lynch et *al.*, 2008).

Les infections buccodentaires (carie dentaire ou stomatite) résultent du déséquilibre écologique entre la matière minérale dentaire et les biofilms présents dans la cavité buccale.

En effet, les bactéries présentes dans le biofilm formant la plaque dentaire interviennent dans des réactions de fermentation de sucres ingérés par l'individu. La fermentation de ces sucres produit des composés acides qui vont attaquer l'émail et la dentine. La dent va se déminéraliser, et une cavité va se creuser dans la dent. Alors une carie dentaire correspond à une destruction localisée de l'émail dentaire par des composés acides issus de la fermentation bactérienne de composés organiques (Simain et *al.*, 2010 ).

### III.2.5. Endocardite infectieuse

Affection correspondant au développement de biofilms localisés sur les valves cardiaques (Habib et *al.*, 2009). Les principaux micro-organismes responsables sont : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp* et *Candida albicans*. Ces micro-organismes proviennent de la peau, d'implants médicaux comme les cathéters veineux centraux ou ont une origine dentaire. Le geste chirurgical permettant l'implantation d'une valve cardiaque artificielle induit des lésions tissulaires. Des plaquettes et de la fibrine ont tendance à s'accumuler au niveau de la zone d'implantation de la valve. Les biofilms rencontrés se forment plutôt au niveau des tissus avoisinants la prothèse ou des sutures que sur la valve en elle-même, ce qui aboutit à la formation d'endocardite infectieuse (Florence et *al.*, 2010). Le traitement de cette infection nécessite une antibiothérapie au long cours et la chirurgie est fréquente (Habib et *al.*, 2009).



### III.3. Résistance aux antibiotiques

Le biofilm est une structure résistante aux agents antimicrobiens par rapport au plancton, la concentration d'ATB nécessaire pour inhiber les bactéries au sein d'un biofilm, peut-être 10 à 100 fois supérieure à la concentration utilisée pour inhiber les mêmes bactéries à l'état planctonique, mais elle ne peut être totalement éliminée, ce qui peut poser de nombreux problèmes en milieu médical (Anger, 2013).

Cette résistance, accrue multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène, etc.....). Elle modifie les propriétés physiologiques des microorganismes et induit des mécanismes de résistance connus. Cela serait dû à la structure du biofilm qui facilite le transfert horizontale de gènes entre les bactéries, processus impliqué dans l'acquisition des gènes de résistance (Roux et Ghigo, 2006 ; Soussereau, 2012).

### III.4. Protection vis-à-vis du système immunitaire

En plus de leur résistance aux antibiotiques, les biofilms peuvent également se protéger contre le système immunitaire de l'hôte infecté. D'abord, la taille du biofilm est le principal obstacle au processus de phagocytose. Et les enzymes libérées par les phagocytes ont peu d'effet sur les biofilms, mais elles peuvent endommager les tissus (Khoury et *al.*, 1992). La matrice extracellulaire est également une barrière pour le système immunitaire de l'hôte car elle empêche les anticorps de reconnaître les antigènes bactériens (Costerton, 1999).

## **Chapitre IV: Etat de l'art en Algérie**

### IV .1. Les biofilms dans le domaine agro-alimentaire

La contamination de surface, notamment par la présence de biofilms dans l'industrie agroalimentaire, occasionne des problèmes d'hygiène et joue un rôle dans la persistance des bactéries pathogènes dans l'IAA (Achek, 2020).

Les biofilms formés par *S. aureus* sur les surfaces de transformation des aliments constituent un problème critique pour l'industrie alimentaire, et un danger source de contamination des matrices alimentaires et des manipulateurs humains (Vergr et *al.*, 2017).

Des études faites par Boujemaa et *al.* (2012), et Lachache et *al.* (2020) sur la microflore du biofilm dans les lignes de transformation laitière algérienne, et les biofilms bactériens isolés à partir du système de distribution d'eau potable dans la région de wilaya d'Ourgla respectivement.

Une étude plus récente réalisée par Achek et *al.* (2020) à partir d'un total de 112 échantillons d'aliments prélevés dans plusieurs points commerciaux et locaux districts situés dans les régions de Médéa et d'Ain-defla, issus de plusieurs types d'IAA (viande de bœuf hachée, saucisses, viande de poulet et crème et lait), les résultats ont montré que 70,9% des *S. aureus* isolés produisent du biofilm,

D'après ces résultats, l'origine du biofilm au niveau de l'industrie laitière était le lait cru. Alors que les surfaces des équipements et les matériaux de conditionnement sont considérée comme source commune de formation des biofilms.

En ce qui concerne les microorganismes associés, d'après les études pré citées, nous trouvons un germe en commun qui forme des biofilms dans l'industrie laitière et même dans les canalisations d'eau potable c'est l'espèce *Bacillus cereus*.

Au même temps, d'autre espèces sont présentes et à ne pas négliger telles que *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, au niveau des canalisations d'eau potable. De même que *Staphylococcus aureus* isolée à partir de plusieurs matrices alimentaires provenant de différents types d'industries de transformation de viande.

Par contre, dans l'industrie laitière nous avons constaté la présence des espèces mésophiles formatrices de spores qui appartenant au genre *Bacillus* (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus*, et *Bacillus subtilis*), qui sont détectées dans divers produits laitiers, et la

présence de ces bactéries pathogènes sensible à la chaleur reflète une contamination post traitements traduisant des conditions d'hygiène insuffisantes (Malek et *al.*, 2012).

Au même temps une autre étude faite par Cherif et *al.* (2015) sur la capacité de formation de biofilm des bactéries récupérées dans les tuyaux en acier inoxydable d'une usine de transformation du lait en Algérie, a démontré aussi l'existence de nombreuses espèces de *Staphylococcus* qui sont impliquées dans la formation de biofilm.

En comparant les causes d'apparition des biofilms, nous avons remarqué des points en commun tels que, l'adhérence de ces agents aux surfaces des équipements qui augmente avec l'élévation de la température, et aussi le pH et dans le temps, la disponibilité des nutriments, aussi la nature des matériaux utilisés dans les industries, mauvais nettoyage des équipements dans les industries plus au type et la concentration en désinfectant.

Comme il existe des facteurs favorisant l'apparition de biofilm seulement dans les canalisations d'eau potable tel que la présence d'un résiduel en chlore.

D'après ces études, nous avons remarqué des similitudes de conséquences de présence de biofilms dans l'industrie laitière et l'eau potable qui se manifestent par :

- La présence des biofilms dans les industries laitières et les canalisations des eaux potable est responsable de la dépréciation de la qualité organoliptique et physicochimique du produit.
- Les bactéries accumulées au niveau d'un biofilm favorisent le développement de macroorganisme et persistent ainsi comme source potentielle de contamination.
- Pour les canalisations d'eau potable nous avons noté l'accélération du phénomène de corrosion par les bactéries formatrices de biofilm, en plus de la capacité d'augmentation des surfaces de résistance induite par la présence de biofilm. Et sur tout la diminution de la durée de vie du lait traité thermiquement.

Sur le plan de santé publique; les biofilms formés peuvent être responsable d'une large variété de pathologies incluant des empoisonnements alimentaires et des infections systémiques. D'un autre côté, ils peuvent être responsables de deux types de toxi-infections alimentaires qualifiées de syndromes diarrhéque et émétique suite à la consommation de produits issus de l'industrie laitières. Ce qui représente un vrai danger chez le consommateur.

### IV .2. Les biofilms dans le domaine médical

En milieu hospitalier, la formation de biofilm est un phénomène connu et la préoccupation principale des hôpitaux en regard des biofilms est directement liée à leur implication dans des diverses pathologies infectieuses.

En médecine humaine, un grand nombre d'infections sont associées aux biofilms produits par les staphylocoques. Le spectre de la présentation clinique comprend l'ostéomyélite, endocardite et autres infections liées aux dispositifs médicaux telles que les prothèses articulaires, les tubes endotrachéaux, prothèses squelettiques, cathéters vasculaires, stimulateurs cardiaques et valves cardiaques (Rady et *al.*, 2008).

En comparant l'étude faite par Bellifa et *al.* (2013) sur l'évaluation du biofilm de *klebsiella pneumoniae* isolée de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen avec l'étude de Rahmoun et *al.* (2014) sur les infections nosocomiales causées par *Staphylococcus aureus* producteur de biofilm dans l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier spécialisé mère-enfant de Tlemcen, pour démontrer la capacité de ces bactéries à adhérer à des surfaces abiotiques en formant des biofilms difficiles à éliminer ; ce qui présente un risque pour la santé humaine.

Différents échantillons cliniques (plaies, pertes vaginales et embouts de cathéter) ont été prélevés sur des patients hospitalisés dans les régions de Médéa et d'Ain-de-fla, lors de l'étude récente de Achek et *al.* (2020) déjà citée, cette étude a révélé que 42% des souches de *Staphylococcus* isolée étaient responsables de formation de biofilms.

D'après ces études, nous remarquons que l'origine des biofilms au niveau du CHU et l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier est la même.

Les germes impliqués dans la formation de ces biofilms sont présents naturellement dans l'environnement hospitalier par exemple dans les jouets introduits dans les couveuses des nouveau-nés prématurés, aussi dans les cathéters qui sont également des surfaces de prédilections des bactéries pathogènes.

En ce qui concerne les microorganismes associés, et en comparant les germes responsables d'apparitions de biofilms nous remarquons que *klebsiella pneumoniae* est responsable de la formation des biofilms dans de divers services de l'hôpital universitaire de Tlemcen (soins intensifs, urologie, et neurologie), alors que *Staphylococcus aureus* est le

germe responsable de la formation des biofilms au niveau de l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier ainsi qu'à partir des prélèvements cliniques des patients hospitalisés dans les régions de Médéa et d'Ain-Defla.

D'après les résultats obtenus de ces études nous avons constaté que les facteurs qui favorisent l'apparition de biofilms formés par *klebsiella pneumoniae* au niveau de CHU et dans l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier dans le quel *Staphylococcus aureus* est responsable de formation de biofilms sont différents :

- Le faible poids à la naissance et l'âge gestationnel bas.
- La prématurité, l'antibiothérapie ou la durée de séjours.
- Le prolongement de la durée d'hospitalisation.
- L'alimentation par voie parentérale ou l'administrations d'antibiotique par voie intraveineuse.

Dans le CHU les conditions qui favorisent la formation des biofilms sont résumés ainsi :

- La longue durée d'implantation des dispositifs médicaux.
- Le système de drainage ouvert dont disposaient les patients et l'utilisation des cathéters à long terme.
- La présence de conditions favorables pour leur croissance telles que la température et le pH.

D'après ces études, la conséquence majeure de la présence de biofilms est représentée par les infections nosocomiales, et la présence de bactéries permet d'acquérir rapidement une résistance aux agents antimicrobiens.

Alors que au niveau de CHU nous avons trouvé que :

- Le biofilm de *Klebsiella pneumonia* est le responsable d'infections opportunistes chez l'homme, notamment des voies urinaire et respiratoire.
- Il provoque des septicémies et des pneumonies chez les personnes âgées.

D'après ces résultats expérimentaux, la source principale de formation de biofilm étant le manque d'hygiène, conduit à la présence de multiples germes pathogènes chez l'homme soit : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*.

## **Chapitre V : Stratégie thérapeutique pour lutter contre les biofilms**

Quel que soit le domaine industriel ou médical, la lutte contre les biofilms pose toujours de réels problèmes. Ainsi, il est nécessaire de développer des moyens de lutte efficaces contre leur formation. Cette lutte contre les biofilms peut se définir selon deux axes principaux : empêcher la formation de biofilms, et lorsqu'ils sont déjà présents, les détruire.

### **V.1. Mesures préventives qui empêchent la formation des biofilms**

#### **V.1. 1. Hygiène**

Les mesures les plus hygiéniques appliquées dans l'environnement chirurgical ou industriel ne sont pas des mesures anti-biofilm spécialisées. Cependant, la limitation du risque de contamination du site d'exploitation et l'application stricte des recommandations de manipulation du matériel limitent le risque d'adhésion bactérienne initiale.

#### **V.1. 2. Les dispositifs imprégnés d'agents ou de substances antimicrobiennes**

L'utilisation de matériel imprégné d'antibactériens permet de libérer localement, au niveau du site à risque de colonisation, une concentration élevée d'agents antibactériens. Il existe aujourd'hui plusieurs types d'imprégnations : antiseptique (chlorhexidine- sulfadiazine argentique), antibiotique (rifampicine-minocycline, rifampicine- miconazole), héparine, ions d'argent (Lezzoum-Atek et *al.*, 2019 ; Francoline, 2010).

L'argent a également montré son efficacité dans la prévention de la formation de biofilm pour les dispositifs intravasculaires mis en place moins de 10 jours. Il limiterait l'attachement et la croissance des bactéries (Donlan et *al.*, 2002).

#### **V.1. 3. Les verrous d'agents chélateurs**

Les cations métalliques (magnésium, calcium, fer) sont essentiels à la croissance bactérienne et peuvent participer au développement et au maintien de la structure de la matrice du biofilm. Ainsi, il a été proposé d'utiliser des mèches composées de ces agents chélatants métalliques (EDTA, citrate), qui peuvent inhiber la croissance bactérienne, empêcher l'adhésion initiale et favoriser la destruction des biofilms.

Des recherches ont été menées sur la lactoferrine, qui est un chélateur du fer qui joue un rôle dans la première ligne de défense contre les agents pathogènes invasifs, qui les privent du fer dont ils ont besoin pour se développer. Il a été démontré que la lactoferrine aide à prévenir le développement de biofilms pathogènes (Donlan, 2011).



### V.2. Traitements curatifs pour l'élimination des biofilms déjà formés (élimination mécanique du biofilm)

Le nettoyage mécanique reste l'une des méthodes les plus efficaces pour lutter contre les biofilms. En raison de la force de cisaillement importante, il peut éliminer les micro-organismes en les séparant de son support. C'est le cas des biofilms présents sur différents supports : peau, implants médicaux (Wanner, 2006).

Nettoyer avant désinfection. Ce dernier a pour but de détruire les bactéries présentes dans le biofilm, et ces bactéries ne peuvent être éliminées par un lavage préalable. Toutes les molécules n'ont pas la même efficacité. L'utilisation de la chlorhexidine comme antiseptique ne réduit pas efficacement le nombre d'infections bactériennes à Gram négatif et sélectionne des individus résistants à de nombreux agents anti- microbiens. La plupart des antiseptiques et désinfectants ont du mal à pénétrer au sein des biofilms, et les bactéries des biofilms sont résistantes à leur action. Cette méthode se révèle peu efficace (Chalvet de Rochemonteix, 2009).

### V.3. Nouvelles approches

#### V.3.1. Brouiller les communications et limiter la maturation du biofilm

Dans cette méthode, le but est d'empêcher la maturation des biofilms en interférant avec les signaux de communication à l'intérieur ou entre les bactéries, elle est utilisable en Algérie (Rebiahi et *al.*, 2014). Par exemple, au niveau des molécules signal quorum sensing, afin de détruire la structure du biofilm et ses propriétés d'antibiorésistance, différentes méthodes ont été proposées pour perturber la communication du système, et ces méthodes diffèrent selon les bactéries impliquées dans le biofilm (Tang Lan, 2008).

#### V.3.2. Cibler la matrice exopolysaccharidique

La matrice exopolysaccharidique est essentielle pour la survie du biofilm. Les substances capables de dépolymériser, dissoudre ou d'empêcher la synthèse de cette matrice encore plus dispersée vont permettre l'exposition des micro-organismes du biofilm aux agents antimicrobiens.

En Algérie, différentes enzymes sont utilisées pour dissocier les polymères composant la matrice extracellulaire du biofilm. On a la dispersine B, enzyme bactérienne capable de dégrader le polymère de N-acétyl-glucosamine de la matrice du biofilm de plusieurs espèces

bactériennes dont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Escherichia coli* (Rebiahi et *al.*, 2014).

### **V.3.3. Elimination ciblée d'une espèce microbienne au sein du biofilm**

Cette méthode d'éradication des biofilms consiste à déstabiliser l'écosystème du biofilm en désorganisant totalement sa structure intime, par l'élimination ciblée d'une espèce bactérienne, que l'on aura choisi au préalable (Chalvet de Rochemonteix, 2009).

### **V.3.4. Potentialisation de l'action des antibiotiques**

Il existe une synergie entre les antibiotiques comme la gentamicine et les ultrasons, qui permettent d'éliminer les bactéries planctoniques ou sous forme de biofilm. Le mécanisme de cette synergie est mal compris, on peut penser qu'elle est causée par la destruction du tissu membranaire bactérien, ce qui permet aux antibiotiques de mieux se diffuser au sein du biofilm (Donlan, 2008). L'effet synergique des ultrasons et de la gentamicine dans la réduction du biofilm d'*E. coli* a été confirmé sur des modèles animaux. Les résultats de l'étude montrent clairement que la combinaison d'ultrasons et de gentamicine est plus efficace que la gentamicine seule pour lutter contre les biofilms (Chalvet de Rochemonteix, 2009).

## Conclusion

---

Les bactéries forment des communautés spatiales hautement organisées, recouverts d'une matrice polymère et fixés à la surface ce sont les biofilms. Dans le quel il protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales difficiles. La formation d'un biofilm peut augmenter la résistance aux antibiotiques, aux désinfectants et à la réponse immunitaire de l'hôte. Le cas échéant, ceci aura comme effet d'interférer avec un traitement adéquat de tout type d'infections, ou une désinfection efficace à la ferme à l'abattoir ou à l'usine de transformation ou n'importe quelle surface industrielle, sans oublier les locaux médicaux.

D'après les études faites en Algérie, ainsi que celles rapportées par la littérature, la présence de biofilms a un impact considérable, que ce soit dans l'industrie agroalimentaire, ou les environnements médicaux, comme la formation de biofilms dans les canalisations et les réseaux d'adduction d'eau, les équipements médicaux ou la muqueuse humaine.

Nous avons relevé que la source principale de formation de biofilms étant le manque d'hygiène, qui conduit à la présence de multiples germes pathogènes à l'homme soit : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsilla pneumoniae*. Cependant, ce mode de vie du biofilm est un processus compliqué et reste un vaste sujet explorer.

Pour cela des mesures préventives doivent être appliquées afin d'éviter l'apparition de ces biofilms. Et surtout, il nous faut effectuer des recherches en vue de développer des stratégies pour la prévention et le traitement des infections chez l'homme en tenant compte des caractéristiques du biofilm. Des recherches sont également requises afin de développer des procédures de désinfection permettant d'éliminer les biofilms à la ferme, à toute échelle industrielle (principalement agro-alimentaire), car ces biofilms représentent des réservoirs potentiels d'agents infectieux et une menace de santé publique.

## **Les références bibliographiques**

## A

---

- Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., & Chihib, N. E. (2014). Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of microbiology*, 196(7), 453-472.
- Achek, R., Hotzel, H., Nabi, I., Kechida, S., Mami, D., Didouh, N., ... & El-Adawy, H. (2020). Phenotypic and molecular detection of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from different sources in Algeria. *Pathogens*, 9(2), 153.
- Ait Meddour A. (2015). Isolement et selection des souches de bactéries lactiques pour la lutte contre les biofilms de bactéries pathogènes et d'altération. Thèse de doctorat. Université de Bejaia. pp.137-138.
- Ait-Meddour A, Bendali F, Saadoun J. (2014). Anti-adhérence potentiel of *Enterococcus durans* cells and its cell-free supernatant on plastic and stainless steel against foodborne pathogens. *Folia microbiologica* 60: 357-363.
- Alberto, V., Normanno, G. G., Pierluigi, D. C., Francesca, P., Roberta, N., Parisi, A., ... & Ianieri, A. (2017). Biofilm Formation and Its Relationship with the Molecular Characteristics of Food-Related Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).
- Alnnasouri, M. (2010). Etude du développement de biofilms dans des réacteurs de traitement d'eau (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Lorraine).
- Arciola, C.R., Campoccia, D., Ravaoli, S., Montanaro, L., 2015. Polysaccharide intercellular adhesin in biofilm: structural and regulatory aspects. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 5, 7.
- Auger, M. (2012). Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques de *Escherichia coli* (impact de la modification des conditions expérimentales) (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat: Biologie médicale).

## B

---

- Bai, A. J., & Rai, V. R. (2011). Bacterial quorum sensing and food industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(3), 183-193.
- Bellifa, S. (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen (Doctoral dissertation).
- Bellifa, S., Hassaine, H., Balestrino, D., Charbonnel, N., Mrsquo, I., Terki, I. K., ... & Forestier, C. (2013). Evaluation of biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae*

isolated from medical devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 7(49), 5558-5564.

- Bellon-Fontaine, M. N., Rault, J., & Van Oss, C. J. (1996). Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 7(1-2), 47-53.
- Beloin, C., Roux, A., Ghigo, J.M., 2008. *Escherichia coli* biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol* 322, 249–289.
- Block J.C, Haudidier K, Paquin J.L, Miazga J., Levi Y. 1993. Biofilm accumulation in drinking water distribution systems, *Biofouling*, 6: 333-343.
- Brady, R. A., Leid, J. G., Calhoun, J. H., Costerton, J. W., & Shirtliff, M. E. (2008). Osteomyelitis and the role of biofilms in chronic infection. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 52(1), 13-22.
- Bramhachari, P. V. (Ed.). (2019). *Implication of Quorum Sensing and Biofilm Formation in Medicine, Agriculture and Food Industry*. Springer.
- Briand et, R. (1999). *Maitrise de l'hygiene des surfaces par la creation de biofilms-aspects physico-chimiques* (Doctoral dissertation, École nationale supérieure agronomique de Rennes (1961-2004)).
- Bridier, A., Briandet, R., Thomas, V., & Dubois-Brissonnet, F. (2011). Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling*, 27(9), 1017-1032.
- Bridier, A., Sanchez-Vizuet, P., Guilbaud, M., Piard, J. C., Naitali, M., & Briandet, R. (2015). Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food microbiology*, 45, 167-178.
- Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M. L., Collette, C., Garin-Bastuji, B., & Thorel, M. F. (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers: situation en France et en Europe. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 16(1), 452-471.
- Brooks, J. D., & Flint, S. H. (2008). Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. *International journal of food science & technology*, 43(12), 2163-2176.
- Burgain, J., Scher, J., Francius, G., Borges, F., Corgneau, M., Revol-Junelles, A. M., & Gaiani, C. (2014). Lactic acid bacteria in dairy food: surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in colloid and interface science*, 213, 21-35.

- Cardazzo, B., Negrisola, E., Carraro, L., Alberghini, L., Patarnello, T. & Giaccone, V. (2008). Multiple-Locus sequence typing and analysis of toxin genes in *Bacillus cereus* food-borne isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(3), 850–860.
- Chalvet de Rochemonteix A. (2009). Les biofilms et la peau. Thèse Pour le Doctorat vétérinaire. École Nationale Vétérinaire D'alfort Paris.
- Characklis, W. G. (1981). Bioengineering report: fouling biofilm development: a process analysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 23(9), 1923-1960.
- Characklis, W. G., Bryers, J. D., Trulear, M. G., & Zilver, N. (1980). Biofouling film development and its effects on energy losses: a laboratory study.
- Cherif-Antar, A., Moussa-Boudjemâa, B., Didouh, N., Medjahdi, K., Mayo, B., & Flórez, A. B. (2016). Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant. *Dairy science & technology*, 96(1), 27-38.
- Chhibber, S., Nag, D., & Bansal, S. (2013). Inhibiting biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae* B5055 using an iron antagonizing molecule and a bacteriophage. *BMC microbiology*, 13(1), 1-8
- Chmielewski, R. A. N., & Frank, J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(1), 22-32.
- Colagiorgi, A., Bruini, I., Di Ciccio, P. A., Zanardi, E., Ghidini, S., & Ianieri, A. (2017). *Listeria monocytogenes* biofilms in the wonderland of food industry. *Pathogens*, 6(3), 41.
- Coppola, S., Parente, E., Dumontet, S., & La Peccerella, A. (1988). The microflora of natural whey cultures utilized as starters in the manufacture of Mozzarella cheese from water-buffalo milk. *Le Lait*, 68(3), 295-309.
- Costerton, J. W., Irvin, R. T., & Cheng, K. J. (1981). The bacterial glycocalyx in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology*, 35(1), 299-324.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.

- Costerton, JW, Geesey, GG et Cheng, KJ (1978). Comment les bactéries collent. Scientific American , 238 (1), 86-95.

## D

---

- Demirci, A., Pometto III, A. L., & Ho, K. G. (1997). Ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* in biofilm reactors. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 19(4), 299-304.
- Djelloul Daouadji, S. *detection de biofilm a staphylocoques* sur catheters veineux (Doctoral dissertation).
- Doberva, M. (2016). Le quorum sensing bactérien dans l'environnement marin: Diversité moléculaire et génétique des auto-inducteurs (Doctoral dissertation, Paris 6).
- Donlan RM., (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerging Infectious Diseases 8 (9), 881-890.
- Donlan RM., Costerton JW., (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical Microbiology Reviews 15, 167-193.
- Donlan, R. M. (2001). Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. Clinical Infectious Diseases, 33(8), 1387-1392.
- Donlan, R. M. (2008). Biofilms on central venous catheters: is eradication possible?. Bacterial biofilms, 133-161.
- Donlan, R. M. (2011). Biofilm elimination on intravascular catheters: important considerations for the infectious disease practitioner. Clinical infectious diseases, 52(8), 1038-1045.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical microbiology reviews, 15(2), 167-193.
- Donlan, R. M. (2000). Role of biofilms in antimicrobial resistance. ASAIO journal, 46(6), S47-S52.
- Dunne Jr, W. M. (2002). Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?. Clinical microbiology reviews, 15(2), 155-166.

## F

---

- Federighi, M. (2005). Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments (p. 290p). Lavoisier.



- Filloux, A., Vallet, I., 2003. Biofilm: set-up and organization of a bacterial community. *Medecine Sciences: M/S* 19, 77–83.
- Folkesson, A., Haagensen, J. A., Zampaloni, C., Sternberg, C., & Molin, S. (2008). Biofilm induced tolerance towards antimicrobial peptides. *PLoS One*, 3(4), e1891.
- Francolini, I., & Donelli, G. (2010). Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 59(3), 227-238.

## G

---

- Giaouris, E., Heir, E., Hébraud, M., Chorianopoulos, N., Langsrud, S., Møretrø, T., ... & Nychas, G. J. (2014). Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat science*, 97(3), 298-309.

## H

---

- Habib, G., Hoen, B., & Tornos, P. (2009). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): the Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 30(19), 2369-2413.
- Hamilton, W. A. (1987). Biofilms: microbial interactions and metabolic activities. *Ecology of microbial communities*, 361-385.
- Henrici, A. T. (1933). Studies of freshwater bacteria: I. A direct microscopic technique. *Journal of bacteriology*, 25(3), 277.
- Herard, A. (1998). Role of biofilm in urology. *Progres en Urologie: Journal de L'association Francaise D'urologie et de la Societe Francaise D'urologie*, 8(3), 413-414.
- Høiby, N., Ciofu, O., Johansen, H.K., Song, Z., Moser, C., Jensen, P.Ø., Molin, S., Givskov, M., Tolker-Nielsen, T., Bjarnsholt, T., 2011. The clinical impact of bacterial biofilms. *International journal of oral science* 3, 55–65.

- Hou W., Sun X., Wang Z. et al., (2012), Investigative Ophthalmology & Visual Science, the Association for Research in Vision and Ophthalmology. (53) : 9. 5624.5631. ISBN : 978- 2 -84444-558 -2. ISBN : 978-27440-7209-3.

## I

---

- Ibrahim, M., Briandet, R., Mistou, M. Y., Chrétien, A., Tremblay, J., & Kulakauskas, S. (2004). Immobilisation des lactocoques. *Le Lait*, 84(1-2), 103-114.
- Irie, Y., Parsek, M.R., (2008). Quorum Sensing and Microbial Biofilms, in: Romeo, T. (Ed.), Bacterial Biofilms, Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp.

## J

---

- Jacobsen, S. Á., Stickler, D. J., Mobley, H. L. T., & Shirtliff, M. E. (2008). Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*, 21(1), 26-59.
- James, G. A., Swogger, E., Wolcott, R., Pulcini, E. D., Secor, P., Sestrich, J., ... & Stewart, P. S. (2008). Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair and regeneration*, 16(1), 37-44.
- Jørgensen, H. J., Mørk, T., & Rørvik, L. M. (2005). The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of dairy science*, 88(11), 3810-3817.
- Joshi, P., Wadhwani, T., Bahale, P., & Kothari, V. (2010). Microbial Chit-Chat: Quorum Sensing. *IUP Journal of Life Sciences*, 4(1).
- Jouenne, T. (2008). Biofilms bactériens. *Techniques de l'Ingénieur, Bioprocédés*, base documentaire, Réf. BIO600 v1.
- Justice, S. S., Hunstad, D. A., Seed, P. C., & Hultgren, S. J. (2006). Filamentation by *Escherichia coli* subverts innate defenses during urinary tract infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(52), 19884-19889.

## K

---

- Kadi, D., n.d. Les biofilms en industrie agroalimentaire : optimisation de leur élimination 55.
- Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., & Khedher, M. (2011, August). Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: mécanismes et modes de régulations. In Annales de biologie clinique (Vol. 69, No. 4, pp. 393-403).
- Khalilzadeh, P. (2009). Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du quorum sensing (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Khoury, A. E., Lam, K., Ellis, B., & Costerton, J. W. (1992). Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices. ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992), 38(3), M174-8.
- Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M. A., & Altermann, E. (2005). Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. FEMS Microbiology Reviews, 29(3), 393-409
- 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.

## L

---

- Lamache, A., Doghri, I., Jacques, M., & Boudjenah-Haroun, S. (2020). Étude des biofilms bactériens isolés à partir du système de distribution d'eau potable dans la région sud-est de l'Algérie. Revue des Sciences de l'Eau/Journal of Water Science, 32(4), 447-461.
- Lebeaux, D., Lucet, J. C., & Barbier, F. S. (2016). Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm: implications en réanimation. Réanimation, 25(3), 308-317.
- Leriche, V., & Carpentier, B. (2000). Limitation of adhesion and growth of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surfaces by *Staphylococcus sciuri* biofilms. Journal of applied microbiology, 88(4), 594-605
- Leriche, V., Chassaing, D., & Carpentier, B. (1999). Behaviour of *L. monocytogenes* in an artificially made biofilm of a nisin-producing strain of *Lactococcus lactis*. International journal of food microbiology, 51(2-3), 169-182.

- Lezzoum-Atek, S., Bouayad, L., & Hamdi, T. M. (2019). Influence of some parameters on the ability of *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, and *Escherichia coli* to form biofilms, *Veterinary World*, 12 (3): 459-465. Abstract.
- Li, Y. H., & Tian, X. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors*, 12(3), 2519-2538.
- Liesse Iyamba, J. M. (2012). Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique.
- Lister, J.L., Horswill, A.R., 2014. *Staphylococcus aureus* biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 4, 178.
- Lyczak, J.B., Cannon, C.L., Pier, G.B., 2002. Lung Infections Associated with Cystic Fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 15, 194–222.
- Lynch, A. S., & Robertson, G. T. (2008). Bacterial and fungal biofilm infections. *Annu. Rev. Med.*, 59, 415-428.

## M

---

- Macfarlane, S., & Dillon, J. F. (2007). Microbial biofilms in the human gastrointestinal tract. *Journal of applied microbiology*, 102(5), 1187-1196.
- Malek, F., Moussa-Boudjemacirc, B., Khaouani-Yousfi, F., Kalai, A., & Kihel, M. (2012). Microflora of biofilm on Algerian dairy processing lines: An approach to improve microbial quality of pasteurized milk. *African Journal of Microbiology Research*, 6(17), 3836-3844.
- Malek, F., Moussa-Boudjemacirc, B., Khaouani-Yousfi, F., Kalai, A., & Kihel, M. (2012). Microflora of biofilm on Algerian dairy processing lines: An approach to improve microbial quality of pasteurized milk. *African Journal of Microbiology Research*, 6(17), 3836-3844.
- Mathur, T., Singhal, S., Khan, S., Upadhyay, D. J., Fatma, T., & Rattan, A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian journal of medical microbiology*, 24(1), 25.

## N

---

- Nagant, C. (2013). Contribution à la recherche de nouveaux agents antibactériens actifs sur les biofilms de *P. aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles d'Europe, France.
- Nassima, D. I. D. O. U. H., Asma, C. A., Ibrahim, B. E. N. A. M. A. R., & Boumedine, M. B. (2015). Physico-chemical surface characterization of *Bacillus cereus* spores isolated from an Algerian dairy plant. *African Journal of Microbiology Research*, 9(2), 57-65.

## O

---

- Oskar Wanner O, Martina Bauchrowitz, (2006) Les biofilms sont omniprésents (Enligne). EAWAG News 60 f: 4-7 .

## P

---

- Park B, Wallis F. (1984). Biofilms in the food environment.
- Pécastaings, S. (2010). Apport de modèles de biofilms à *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila* à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux minérales naturelles (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier)
- Pelletier, C., Bouley, C., Cayuela, C., Bouttier, S., Bourlioux, P., & Bellon-Fontaine, M. N. (1997). Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei sub sp. casei*, *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Applied and environmental microbiology*, 63(5), 1725-1731.
- Perrin, C. (2009). Implication et régulation de la production des curli dans la résistance au nickel au sein de biofilms d'*Escherichia coli* K-12 (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
- Peters, B. M., Jabra-Rizk, M. A., O'May, G. A., Costerton, J. W., & Shirtliff, M. E. (2012). Polymicrobial interactions: impact on pathogenesis and human disease. *Clinical microbiology reviews*, 25(1), 193-213.
- Pratt, L. A., & Kolter, R. (1998). Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular microbiology*, 30(2), 285-293.

- Pratt, L.A., Kolter, R., 1998. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular microbiology* 30, 285–293.

## Q

---

- Queck, S.-Y., Weitere, M., Moreno, A.M., Rice, S.A., Kjelleberg, S., 2006. The role of quorum sensing mediated developmental traits in the resistance of *Serratia marcescens* biofilms against protozoan grazing. *Environmental Microbiology* 8, 1017–1025.

## R

---

- Ramírez, M. D. F., van Hijum, S. A., Boekhorst, J., Ederveen, T. H., Kleerebezem, M., Smid, E. J., ... & Abee, T. Strain-specific tracking of *Lactobacillus plantarum* in competitive multi-strain static and dynamic flow biofilm models. Characterisation of *Lactobacillus plantarum* single and multi-strain biofilms, 91.
- Rebahi, S. A., Rahmoun, M., Seddiki, S. M. L., Kadi, K., Belhadji, F., Chabni, N., & Kunkel, D. (2014). Infections nosocomiales causées par *Staphylococcus aureus* producteur de biofilm dans l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier spécialisé mère-enfant de Tlemcen, Algérie. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 27(5), 228-235.
- RECHAM, H., & de GS1 Algeria, D. G. (2015). Le marché des industries alimentaires en Algérie. *Revue agroligne*, (97).
- Rewatkar, A. R., & Wadher, B. J. (2013). *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilm formation Methods. *J Pharm Biol Sci*, 8(5), 36-40.
- Reynolds, T. B., & Fink, G. R. (2001). Bakers' yeast, a model for fungal biofilm formation. *Science*, 291(5505), 878-881.
- Roux, A. et Ghigo, J.-M. (2006) Bacterial biofilms, *Bull. De l'Académie vét. De France*, 159, 261-268.

## S

---

- Sabia, C., Manicardi, G., Messi, P., De Niederhäusern, S., & Bondi, M. (2002). Enterocin 416K1, an antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus casseliflavus* IM 416K1 isolated from Italian sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 75(1-2), 163-170.
- Sausseureau, E. (2012). Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d'une infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans le cadre de la mucoviscidose: efficacité et innocuité (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- Semedo, T., Santos, M. A., Lopes, M. F., Marques, J. J. F., Crespo, M. T., & Tenreiro, R. (2003). Virulence factors in food, clinical and reference enterococci: a common trait in the genus?. *Systematic and Applied Microbiology*, 26(1), 13-22.
- Sharma, G., Sharma, S., Sharma, P., Chandola, D., Dang, S., Gupta, S., & Gabrani, R. (2016). *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. *Journal of applied microbiology*, 121(2), 309-319.
- Shi, X., & Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 407-413.
- Simain-Sato, F., Rompen, E., & Heinen, E. (2010). Biofilms bactériens et médecine dentaire. *Revue medicale de Liege*, 65, 569-573.
- Stahlhut, S. G., Struve, C., Krogfelt, K. A., & Reisner, A. (2012). Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 65(2), 350-359.
- Stickler, D. J. (2008). Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. *Nature clinical practice urology*, 5(11), 598-608.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology* 56, 187–209.

## T

---

- Tenke, P., Kovacs, B., Jäckel, M., Nagy, E., 2006. The role of biofilm infection in urology. *World journal of urology* 24, 13–20.
- Tolker-Nielsen, T., Molin, S., 2000. Spatial organization of microbial biofilm communities. *Microbial ecology* 40, 75–84.

- Tomlin, K.L., Malott, R.J., Ramage, G., Storey, D.G., Sokol, P.A., Ceri, H., 2005. Quorum-sensing mutations affect attachment and stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 5208–5218.
- Trachoo, N. (2003). Biofilms and the food industry. *Biofilms*, 25(6), 808.
- Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). Bacterial biofilms: their importance in animal health and public health. *Canadian journal of veterinary research= Revue canadienne de recherche veterinaire*, 78(2), 110-116.

## V

---

- Van Houdt, R., & Michiels, C. W. (2005). Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Research in microbiology*, 156(5-6), 626-633.
- Vlkova, H., Babak, V., Seydlová, R., Pavlik, I., & Schlegelova, J. (2008). Biofilms and hygiene on dairy farms and in the dairy industry: sanitation chemical products and their effectiveness on biofilms—a review. *Czech J. Food Sci*, 26(5), 309-323.

## W

---

- Wijman, J. G., de Leeuw, P. P., Moezelaar, R., Zwietering, M. H., & Abee, T. (2007). Air-liquid interface biofilms of *Bacillus cereus*: formation, sporulation, and dispersion. *Applied and environmental microbiology*, 73(5), 1481-1488.

## Z

---

- Zobell, C. E., & Allen, E. C. (1935). The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. *Journal of bacteriology*, 29(3), 239.
- Zottola, E. A., & Sasahara, K. C. (1994). Microbial biofilms in the food processing industry—should they be a concern?. *International journal of food microbiology*, 23(2), 125-148.