

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى-جيجل

Université Mohamed Seddik Ben yahia -Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie Appliquée

et Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية

و علوم التغذية

Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Adhésion et propriétés de surface de deux souches de
bactéries lactiques

Lactobacillus paracasei et *Lactococcus lactis*

Membres de jury :

Président : M^r Khennouf Tarek

Examineur : P^f Sifour Mohamed

Encadreur: D^r Ait Meddour Amel

Présenté par :

M^{elle} Berkat Laila

M^{elle} Laib Lynda

Année Universitaire 2017 – 2018

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions notre créateur « Allah » tout puissant qui nous a donné la force, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude au Dr Ait Meddour Amel, sans son aide ce travail n'aurait pu aboutir. Merci madame pour votre confiance, votre soutien, votre patience et votre disponibilité.

Nos vifs remerciements s'adressent à Mr Khenouf d'avoir accepté de présider le jury de soutenance et au Pr Sifour d'avoir accepté d'examiner notre mémoire

Nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants du département de Microbiologie Appliquée et des Sciences Alimentaires de l'université Mohammed Seddik Benyahia. Grace à vous nous avons acquis beaucoup de connaissances, d'informations... durant notre cursus.

Un grand merci à nos parents qui nous ont soutenues et encouragées durant toutes ces années.

Merci à tous

DEDICACES

Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur Mohamed le messager de Dieu.

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail.

A Mes cher parents ; symbole de sacrifice, de tendresse d'amour. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Merci de m'avoir permis d'aller aussi loin dans mes études et de m'avoir soutenue tout au long de ces années.

A mes chères sœurs, à mes frères, leurs épouses et leurs enfants.

A ma famille maternelle et paternelle et à tous qui prennent le nom BERKAT.

A mes amies.

A tous ce qui m'ont apporté de l'aide de près ou de loin.

A tous ce qui me sont chers et à toutes les personnes que j'aime.

A ma camarade Lynda.

Laila

DEDICACES

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail

A

Ma chère maman, toi qui est toujours là à me consoler, me soulager et m'encourager, toi qui donnes le précieux de toi pour me voir réussir de jour en jour, que Dieu te donne tous que tu veux,

Mon cher papa, tu es un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, que Dieu te donne la santé et une longue vie.

Mes chères sœurs, Kenza et Meriem.

Mes chers frères, Wahid et Sami.

Ma grand-mère.

Mon grand-père.

Tous mes oncles et toutes mes tantes.

Tous mes proches.

Toutes mes amies sans exception.

Ma camarade Laïla.

Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Lynda

Liste des figures

Liste des abréviations

SOMMAIRE

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I. ADHESION ET FORMATION DE BIOFILM

1. Historique et définition.....	3
2. Architecture et composition.....	3
3. Formation de biofilm.....	4
3.1. Conditionnement de la surface.....	4
3.2. Transport des bactéries vers le support.....	5
3.3. Adhésion.....	5
3.4. Maturation.....	6
3.5. Dispersion.....	6
4. Facteurs influençant l'attachement aux surfaces industrielles.....	6
4.1. L'hydrophobicité et la topographie du support.....	6
4.2. Facteurs liés aux microorganismes.....	7

II. BIOFILMS DE BACTERIES LACTIQUES

1. Définition des bactéries lactiques.....	9
2. Principaux genres.....	9
3. Utilisation des bactéries lactiques.....	9
3.1. Genre <i>Lactobacillus</i>	10
✚ Exemples de lactobacilles utilisés dans la décontamination.....	10
3.2. Genre <i>Lactococcus</i>	11
✚ Exemples de lactocoques utilisés dans la décontamination.....	11

Matériel et méthodes

1. Origine des souches utilisées.....	12
2. Revivification des souches.....	12
3. Vérification de la pureté	12
4. Détermination de l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface bactérienne.....	12
4.1. En utilisant le xylène.....	12
4.2. En utilisant l'hexadécane.....	13
5. Adhésion sur supports solides.....	13
5.1. Choix du support solide.....	13
5.2. Procédure de nettoyage et de désinfection des supports.....	13
5.3. Test d'adhésion par immersion.....	13

Résultats et Discussion

1. Vérification de la pureté des souches.....	15
2. Détermination de l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface bactérienne.....	15
3. Adhésion sur l'acier inoxydable.....	16
Conclusion.....	19

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

LISTE DES FIGURES

N° de la figure	Titre	N° de page
Fig. 1	Micrographie électronique d'un biofilm de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur une surface métallique dans un système de distribution d'eau.	4
Fig. 2	Image en forme de tours d'un biofilm bactérien.	4
Fig. 3	Pourcentages d'affinité de <i>Lb. paracasei</i> et de <i>L. lactis</i> au xylène et à l'hexadécane.	15
Fig. 4	Adhésion de <i>Lb. paracasei</i> et de <i>L. lactis</i> sur l'acier inoxydable AISI 316 L immergé dans une solution de TS et dans le MRS.	17

LISTE DES ABREVIATIONS

A : Absorbance

A% : Affinité en pourcentage

AISI: American Institute of Steel and Iron

ADNr: Acide Désoxyribonucléique ribosomique

EPS: Exopolysaccharides

GRAS: Generally Recognized As Safe.

MATS: Microbial Adhesion to Solvents

MRS: Man, Rogosa et Sharpe

sp:species

spp:species plural

TS : Tryptone -Sel

UFC:Unité Formant Colonies.

UV : UltraViolet

Les biofilms sont des microorganismes adhérents à des surfaces, ces derniers étant omniprésents et capables de s'adapter à des environnements extrêmes tels que les sources d'eau chaude, les glaces polaires... il apparaît maintenant évident que toutes les surfaces qui nous entourent, depuis les matériaux inertes jusqu'aux tissus végétaux et animaux, sont potentiellement colonisées par les biofilms (**Dessaigne et al., 2008**).

Selon plusieurs auteurs, l'adhésion devrait être gouvernée par les interactions physicochimiques. Ces interactions, dont la résultante peut être attractive ou répulsive. Ces interactions dépendent des propriétés physicochimiques de la surface des microorganismes, de celles des supports et des caractéristiques du milieu de suspension. Ces propriétés physicochimiques comprennent l'hydrophobicité, la charge électrostatique et le caractère donneur d'électrons/accepteur d'électrons (**Braindet et al., 1999 ; Faille et al., 2002**).

Les biofilms sont connus pour leurs effets indésirables, parmi les impacts négatifs les plus connus, on peut citer les maladies nosocomiales, les contaminations de produits alimentaires, la biodégradation des matériaux (la biocorrosion)(**Parot, 2007**).

Néanmoins, tous les biofilms ne sont pas néfastes pour l'Homme et ils jouent un rôle positif dans bien des domaines. Pour ces raisons, les chercheurs ont opté pour de nouvelles approches de lutte contre les biofilms négatifs (**Giaouris et al., 2014**). Les bactéries lactiques sont très utilisées dans l'industrie agroalimentaire en particulier dans l'industrie laitière et fromagère, les biofilms formés par ces dernières servent à inhiber l'adhésion de certaines bactéries pathogènes et d'altération par la synthèse des composés antagonistes tels que les acides, les bactériocines, ou des biosurfactants (**Guerrieri et al., 2009**).

L'objectif du travail présenté consiste en premier lieu d'étudier les propriétés de surface de deux souches de bactéries lactiques *Lactobacillus paracasei* et *Lactococcus lactis* en appliquant la méthode d'adhésion aux solvants et en deuxième lieu de tester leur capacité d'adhérer sur des supports solides tels que l'acier inoxydable.

Ce manuscrit comporte deux parties :

La partie 1 résume les connaissances acquises dans le domaine de biofilms ainsi que dans celui des bactéries lactiques.

Lapartie 2 consiste en une description des protocoles expérimentaux réalisés ainsi que les résultats obtenus. L'ensemble des résultats sera ensuite discuté pour aboutir à une conclusion générale et ouvrir sur de nouvelles perspectives.

1. Historique et définition

Les microorganismes sont traditionnellement étudiés comme planctonique (cellules libres en suspension) (**Costerton, 1999 ; Donlan, 2002**). Cependant, des études détaillées de communautés sessiles (cellules attachées) dans différents environnements ont conduit à la conclusion que la croissance microbienne planctonique existe rarement dans la nature (**Vu et al., 2009**).

Heukelekian et Heller ont trouvé que pour les microbes marins, la croissance et l'activité étaient renforcées par la présence d'une surface sur laquelle ils pouvaient adhérer (**Heukelekian et Heller, 1940**). Au cours d'une étude sur les populations de bactéries marines naturelles, Zobell a également découvert qu'il y avait beaucoup plus de microbes attachés aux surfaces solides que ceux trouvés dans le milieu environnant (**Zobell, 1943**). Van Leeuwenhoek ait été le premier à examiner des biofilms bactériens sur la surface de ses propres dents au XVII^{ème} siècle (**Socransky et al., 1998 ; Donlan, 2002**). Le terme «biofilm» a été inventé, décrit et affirmée en 1978 par **Costerton et al., (1978)**. Et il a été démontré que plus de 99% des bactéries se développent en biofilms (**Coghlan, 1996 ; Donlan et Costerton, 2002**).

Les biofilms sont généralement définis comme des agrégats des microorganismes (bactéries, champignons, algues, protozoaires) attachés à une surface et enrobés d'une matrice polymérique extracellulaire autoproduite (**Costerton et al., 1999 ; Hall-Stoodly et al., 2009**). Les bactéries peuvent développer des biofilms sur un certain nombre de surfaces, telles que les environnements aquatiques et pédologiques naturels, les tissus vivants, les dispositifs médicaux ou les systèmes de canalisation d'eau potable ou industriels (**Vu et al., 2009**). Des grappes de différentes populations microbiennes sont présentes dans presque tous les milieux humides où le flux de nutriments est disponible et où la fixation de surface est possible (**Singh et al., 2006**).

2. Architecture et composition

La matrice du biofilm est hautement hydratée et peut contenir jusqu'à 97 % d'eau. Elle peut être constituée de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensioactifs, de lipides, de glycolipides et de cations (**Tremblay et al., 2014**). Certains de ces polysaccharides sont neutres ou polyanioniques, c'est le cas pour les bactéries gram-négatif. Dans le cas des bactéries gram-positif, la composition chimique peut être très différente et peut être principalement cationique.

Les progrès en microscopie non destructive (notamment le développement de la microscopie confocale à balayage laser) ont apporté une image plus précise de l'architecture du biofilm (**Costerton et al., 1995 ; Allesen-Holm et al., 2006**). Ainsi, les bactéries peuvent former un tapis

I. Adhésion et formation de biofilms

unique à la surface du support ou peuvent s'organiser en des structures tridimensionnelles plus complexes (Fig. 1). L'image la plus courante (Fig. 2) se présente sous la forme de microcolonies s'organisant en structures piégées dans une matrice et pouvant prendre la forme de champignons ou de tours (**Donlan et Costerton, 2002**). Suivant les conditions environnementales, le ou les microorganismes présents et le type de support, la forme et l'épaisseur du biofilm varient considérablement (**Stoodley et al., 1997**).

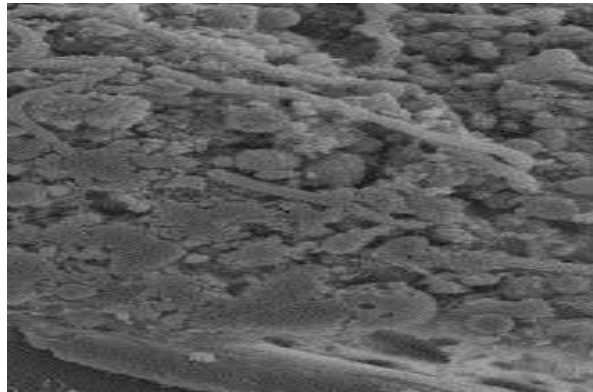


Fig.1. Micrographie électronique d'un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* sur une surface métallique dans un système de distribution d'eau (**Donlan et Costerton, 2002**)



Fig.2. Image en forme de tours d'un biofilm bactérien (**Donlan et Costerton, 2002**)

3. Formation de biofilm

3.1. Conditionnement de la surface

Le conditionnement de la surface des matériaux ou la formation du film de conditionnement est considéré comme la première étape du processus de formation du biofilm. La surface de tout support exposé à un milieu aqueux sera inévitablement et presque immédiatement conditionnée ou recouverte de polymères provenant de ce milieu (**Donlan, 2002**). L'adsorption de ces molécules

I. Adhésion et formation de biofilms

provoque des modifications des propriétés physicochimiques de la surface du support et affecte l'adhésion microbiennes (**Bakker *et al.*, 2004 ; Lorites *et al.*, 2011**) qui sera ainsi favorisée ou inhibée. Cette dernière propriété est utilisée comme approche dans la lutte préventive contre l'adhésion microbienne et la formation de biofilms, par modification des surfaces (**Bazaka *et al.*, 2012**).

3.2. Transport des bactéries vers le support

Les microorganismes doivent être transportés à proximité du support par un mécanisme actif ou passif. Le transport passif est dominé par des phénomènes non spécifiques tels que le flux, les mouvements brownien ainsi que la viscosité du milieu. Le transport actif consiste dans le déplacement des cellules en réponse à l'attraction exercée par la couche visqueuse riche en nutriment (chimiotactisme). Ce phénomène implique les organites de déplacement tels que les flagelles. Ces dernières années, de nombreux travaux ont montré que la mobilité bactérienne joue un rôle central dans la colonisation bactérienne des surfaces et la formation de biofilm (**Shrout et Chopp, 2006; Houry *et al.*, 2011**). D'après **Houry *et al.*, (2011)**, la mobilité est nécessaire aux bactéries pour atteindre les sites convenables pour la formation de biofilms. Des travaux ont montré que les biofilms formés par des mutants déficients dans les gènes de synthèse du flagelle forment des biofilms plats constitués d'une monocouche de cellule.

3.3. Adhésion

L'adhésion des microorganismes à une surface inerte ou vivante est un processus complexe qui n'est pas encore complètement élucidé et déviant souvent des modèles théoriques qui la décrivent (**Hori et Matsumoto, 2010**). Il est cependant admis que l'adhésion microbienne aux surfaces est caractérisée par une phase physicochimique initiale non spécifique, suivie par une phase moléculaire et cellulaire spécifique appelées couramment adhésion réversible et adhésion irréversible.

✓ Adhésion réversible

La phase réversible, est dominée par des interactions de longues distances, considérées comme de faible intensité. Il s'agit des forces d'attractions de Van der Waals et des interactions électrostatiques répulsives qui apparaissent lorsque la distance qui sépare les bactéries du support atteint 50 nm.

✓ Adhésion irréversible

La phase irréversible est caractérisée par des interactions de courte distance telles que les interactions hydrophobes, acides-base de Lewis, et la formation de dipôle. La formation des microcolonies est le résultat de l'accumulation et de la croissance des microorganismes et est

associée à la production d'EPS (**Chmielewski et Frank, 2003**), ce qui contribue à renforcer le lien entre les microorganismes et le substrat (**Donlan, 2002**).

3.4. Maturation

La maturation du biofilm est l'étape où il se développe en une structure organisée qui peut être plate ou en forme de champignon, en fonction de la source de nutriments dont elle dépend (**Chmielewski et Frank, 2003 ;Klausen et al., 2003**). Dans cette phase, les microcolonies se différencient en véritables biofilms, des périodes de 10 jours ou plus sont nécessaires (**Sauer et al., 2002**).

3.5. Dispersion

L'étape finale de la formation d'un biofilm est le détachement et la dispersion de cellules (**Kaplan, 2010**). Elle peut se produire naturellement en raison de l'épuisement des nutriments ou de l'accumulation de déchets toxiques (**Winkelströte et al., 2014**), comme elle peut se produire par différents facteurs : perturbations mécaniques (force de cisaillement), dégradation enzymatique de la matrice polymérique, dégradation enzymatique du substrat sur lequel le biofilm est attaché...

4. Facteurs influençant l'attachement aux surfaces industrielles

La bio-adhésion est dépendante de l'énergie d'interaction entre les microorganismes, le support récepteur et le fluide environnant. Ainsi, tous les paramètres susceptibles de modifier ces interactions peuvent potentiellement influencer l'adhésion microbienne.

4.1. L'hydrophobicité et la topographie du support

Les matériaux les plus couramment utilisés en industrie laitière sont les aciers inoxydables AISI 304 L et 316 L (**Bremer et al., 2009**), parce qu'ils répondent exactement aux exigences des matériaux en contact avec les aliments (**Marchand et al., 2012**). Ce sont des matériaux faciles à nettoyer et résistants à la corrosion (**Bremer et al., 2009**). Les polymères et les caoutchoucs sont également utilisés (**Austin et Bergeron, 1995 ; Faille et Carpentier, 2009**). Le choix du matériau est d'une grande importance, les propriétés de surface telles que la rugosité, la capacité de nettoyage et de désinfection, l'hydrophobicité, peuvent influencer sur l'adhésion bactérienne (**Van Houdt et Michielis, 2010**). Ces derniers sont au centre d'une large controverse.

La plupart des études réalisées dans des domaines d'applications diverses ont montré que les microorganismes adhèrent plus difficilement aux supports hydrophiles (verre) présentant une plus forte affinité à l'eau et les solvants polaires qu'aux matériaux hydrophobes (polyéthylène, polystyrène, téflon). Dans le cas des surfaces hydrophiles, des liaisons hydrogènes s'établissent entre les molécules d'eau du milieu et les groupements fonctionnels polaires ou chargés du support

I. Adhésion et formation de biofilms

solide. Cela provoque un phénomène de répulsion hydrophile avec la surface microbienne, si celle-ci est hydrophile, et ce du fait de l'existence d'une couche d'eau liée aux surfaces et organisée en réseau. Au contraire, un support hydrophobe est inerte vis-à-vis des molécules d'eau qui ont tendance à s'en éloigner. Dans le cas où ces molécules sont confinées entre deux surfaces hydrophobes (support et microorganisme), leur mouvement moyen en direction de la solution aqueuse favorise le rapprochement des surfaces, ce qui se traduit par un phénomène d'attraction hydrophobe (**An et Friedman, 1998 ; Bos et al., 1999**).

Les matériaux, selon leur nature, présentent à leur surface des imperfections qui correspondent à des anfractuosités qui sont des endroits privilégiés pour la colonisation microbienne. Les microorganismes en se logeant dans ces imperfections peuvent alors être protégés des agressions extérieures (nettoyant-désinfectant, ultrasons) (**Boulangé-Petermann, 1996**). Des recherches ont démontré que l'effet de la rugosité des surfaces sur l'adhésion microbienne semble varier selon le type de surface et le type de microorganisme. Pour certains auteurs, la présence de fissures et de « micro-crevasses » augmente l'aire de contact et peut favoriser l'adhésion en protégeant les microorganismes, notamment les bactéries, des phénomènes de cisaillement hydrodynamique et des agents chimiques de désinfection (**Arnold et Bailey, 2000**). En effet l'absence de relation entre l'adhésion des bactéries et la rugosité a été rapportée. Dans une étude, **Riedewald, (2006)**, a montré que des surfaces ayant subi un électro-polissage poussé ont permis l'adhésion d'un nombre important de bactéries. **Hilbert et al., (2003)**, ont également trouvé que la rugosité de l'acier inoxydable (Ra variant de 0.01 à 0.9 µm) n'influeait ni sur l'adhésion ni sur la colonisation des surfaces ni sur l'élimination des biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2. Facteurs liés aux microorganismes

L'hydrophobicité et la charge de la surface cellulaire jouent un rôle prépondérant lors de l'adhésion. Ces deux propriétés sont liées à la composition de l'enveloppe cellulaire (**Palmer et al., 2007**), ainsi qu'aux conditions de culture et à l'âge de la culture (**An et Friedman, 1998**). Une hydrophobicité importante est souvent corrélée à une forte adhésion, notamment aux surfaces hydrophobes comme les plastiques par l'intermédiaire de forces d'attraction hydrophobes (**Donlan, 2002**). Par exemple, les *fimbriae* contiennent une forte proportion d'acides aminés hydrophobes ce qui conduit à l'établissement d'interactions hydrophobes avec un support solide (**Donlan, 2002**). Les flagelles permettent à la bactérie d'être mobile et semblent jouer un rôle important dans les premières étapes de l'adhésion en contrecarrant les forces de répulsion électrostatique (**Pratt et Kolter, 1998 ; Donlan, 2002**). Chez *E. coli*, les curli et les pili de type I et F sont directement impliqués dans les toutes premières étapes de l'adhésion bactérienne (**Pratt et Kolter, 1998 ;**

I. Adhésion et formation de biofilms

Beloin *et al.*, 2008). Les acides teichoïques, composants spécifiques des bactéries à Gram positif, semblent également exercer un effet sur l'adhésion de ces bactéries en conférant à la cellule une charge de surface négative. En effet, **Gross *et al.*, (2001)**, ont démontré qu'un mutant de *S. aureus* dont les acides teichoïques ne comportent pas de D-alanine était incapable d'adhérer au polystyrène en raison de l'accroissement de la charge négative de surface par rapport à la souche sauvage.

Des protéines de surface (de nature hydrophobe), fréquemment appelées « adhésines », sont fortement impliquées dans l'adhésion aux supports (**Flint *et al.*, 1997**) par l'intermédiaire d'interactions spécifiques ou de la mise en place d'interactions hydrophobes. Ainsi, **Cucarella *et al.*, (2001)**, ont identifié chez *S. aureus* une protéine de paroi appelée BAP (« Biofilm Associated Protein ») et ont démontré que les bactéries produisant cette dernière adhèrent fortement à des surfaces en plastique (polystyrène) contrairement aux mutants qui en sont déficients.

D'autres polymères présents à la surface des bactéries, notamment les polysaccharides sont également impliqués dans l'adhésion initiale (**Atabek et Camesano, 2007**). Les polymères excrétés par les bactéries (EPS) induisent quant à eux un renforcement de l'adhésion au support, la rendant irréversible (**Kuchma *et al.*, 2005**). Le pH du milieu, par son influence sur le nombre de groupements chimiques dissociés (carboxyles, phosphates, amines, etc.) présents à la surface cellulaire intervient dans l'intensité des forces d'interactions électrostatiques. Par conséquent, l'adhésion des cellules aux supports est favorisée lorsque leur charge de surface est nulle, c'est-à-dire lorsque le pH du milieu est proche du point isoélectrique (pI) du microorganisme (**Husmark et Rønner, 1990**). D'une manière générale de nombreux travaux (**Giotis *et al.*, 2009**), ont montré que cette propriété subit des modifications plus ou moins importantes en fonction des conditions environnementales telles que le pH.

1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont définies comme étant des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimioorganotrophes, c'est-à-dire qui requiert des molécules organiques complexes comme source d'énergie (**De Roissart, 1986**). Elles sont des bactéries à Gram positif, à faible teneur en GC, anaérobies mais aérotoles, asporulées, généralement immobiles, produisent de l'acide lactique en tant que principal produit final métabolique de la fermentation des hydrates de carbone. Elles peuvent se présenter en bâtonnets ou en cocci (**Mattu et Chauhan, 2013**). Elles sont dépourvues de cytochrome-oxydase, de nitrate-oxydase et ne possèdent pas de catalase (certaines possèdent une pseudocatalase). Leur métabolisme énergétique est principalement de type fermentaire. Elles peuvent être homofermentaires, l'acide lactique représentant alors 70% du produit métabolique ou bien hétérofermentaires, produisant 50% d'acide lactique mais également d'autres composés tels que l'acide acétique, le CO₂ ou l'éthanol (**König et Fröhlich, 2009**).

2. Principaux genres

Selon Stiles et Holzapfel, les bactéries lactiques regroupent les genres suivants : *Aerococcus*, *Alliococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. Cependant, c'est surtout le genres *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Weissella* qui sont soumis à des applications dans les industries alimentaires pour le développement des aliments fonctionnalisés (**Burgain et al., 2014**). La relation phylogénétique entre les différents genres de bactéries lactiques est basée sur la comparaison des séquences d'ARN ribosomal 16S (**Saad, 2010**).

3. Utilisation des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très utilisées dans l'industrie agroalimentaire. Elles ont plusieurs rôles dans la production de produits fermentés. Tout d'abord, les bactéries lactiques vont permettre de changer la saveur de l'aliment et sa texture. Ces changements sont dus notamment à l'acide lactique produit au cours de la croissance. D'autre part, les bactéries lactiques produisent des peptides et des molécules comme l'acétoine, l'acétaldéhyde, le diacétyle ou l'éthanol qui sont importants pour la flaveur des aliments. Certaines bactéries lactiques comme *Lb. Helveticus* sont utilisées pour produire industriellement de l'acide lactique employé comme additif en alimentation et dans les produits cosmétiques ou pharmaceutiques. L'acide lactique est aussi transformé en acide

II. Biofilms de bactéries lactiques

polylactique, utilisé dans la fabrication d'implants pour la chirurgie osseuse ou pour la fabrication de films plastiques biodégradables (**Rammelsberg et al., 1990**).

Les bactéries lactiques peuvent être aussi utilisées comme des flores pour coloniser les surfaces en contact avec les aliments et empêcher ainsi l'implantation des microorganismes pathogènes. Cette voie de maîtrise de décontamination est dite «biofilms positifs», (**Briandet, 1999 ; Leriche et al., 2000**). Les biofilms positifs sont des biofilms protecteurs susceptibles de modifier les propriétés physicochimiques des substrats (surfaces), avec pour conséquence positive, une altération de l'implantation de microorganismes planctoniques indésirables entrant à leur contact. Les biofilms positifs de lactocoques producteurs de bactériocine ont été employés avec succès aux laboratoires. En outre, une large gamme de produits fondés sur les propriétés de l'association de lactobacilles est commercialisée pour le traitement des lisiers, des litières, la réduction des odeurs et la prévention contre les bactéries pathogènes.

« Dans cette étude uniquement les genres *Lactobacillus* et *Lactococcus* sont détaillés »

3.1. Genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles appartiennent à la flore normale des voies gastro-intestinales et urogénitales de l'homme et de l'animale (**Gomaa, 2013**). Quelques souches de *Lactobacillus* sont utilisées dans les fermentations alimentaires, et des exemples typiques sont trouvés dans l'industrie laitière pour la production de fromage, de yaourt et autres produits laitiers fermentés (**de Roissart et Luquet, 1994**). Certaines lactobacilles jouent un rôle de protecteur en produisant des composés antimicrobiens qui inhibent la croissance des pathogènes (**Gomaa, 2013**). *Lb. paracasei* est l'une de ces lactobacilles probiotiques, elle est capable de produire des biosurfactants (**Gudina et al., 2010**), des bactériocines, et des protéinases (**Lozo et al., 2007**).

Exemples de lactobacilles utilisés dans la décontamination

Plusieurs auteurs ont démontré la formation de biofilms « positifs » par les lactobacilles sur certaines surfaces abiotiques. **Lebeer et al., (2007)** ont démontré que *Lb. rhamnosus* GG est capable de former de biofilms sur dupolystyrène. **Kubota et al., (2008)** ont montré que *Lb. plantarum* subsp. *Plantarum* JCM1149, *Lb. Brevis* JCM1059 et *Lb. fructivorans* JCM 1117 sont capables de former des biofilms sur le verre.

Il a été démontré que *Lb. sakei* 1 et sa bactériocine, la sakacine 1 pourrait être efficace pour inhiber les premiers stades d'adhésion de *L. monocytogenes* sur les surfaces en acier inoxydable (**Winkelstroter et al., 2011**). *Lb. plantarum* DSM055, *Lb. curvatus* DMS20019 synthétisant des bactériocines inhibent l'adhésion de *L. monocytogenes* sur l'acier inoxydables AISI 316 L

II. Biofilms de bactéries lactiques

(Speranza *et al.*, 2009). La libération de biosurfactants par la souche de *Lb. paracasei* ssp *paracasei* A 20 a été efficace pour réduire l'adhésion d'*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Str. mutans* HG985, *Str. oralis* J22 et *C. albicans* (Gudina *et al.*, 2010). Il a été démontré par Xue *et al.*, (2014) que *Lb. paracasei* peut inhiber l'adhésion de *Salmonella* aux cellules épithéliales, ce processus est lié aux composants spécifiques de la surface bactérienne.

3.2. Genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* est omniprésent dans l'environnement. Il est largement utilisé dans les fermentations alimentaires, en particulier dans les produits laitiers (Casalta et Montel, 2008). Les lactocoques sont utilisés comme des antigènes ou des cytokines, des vaccins muqueux ou des immunomodulateurs thérapeutiques, des enzymes ou des vitamines pour améliorer l'état des consommateurs, ou des agents antimicrobiens pour améliorer la sécurité alimentaire (Oxaran *et al.*, 2012). Le genre *Lactococcus* comprend 5 espèces. *L. lactis* est le plus commun dans les produits laitiers (Casalta et Montel, 2008). *L. lactis* appartient au groupe des bactéries lactiques, qui vivent généralement dans des niches écologiques riches en nutriments comme les plantes, le mucus de l'intestin et le lait. (Oxaran *et al.*, 2012). Il est largement utilisé dans la fabrication de fromage et d'autres produits laitiers fermentés (Radziwill-Bienkowska *et al.*, 2016). Il contribue aussi au développement de la texture des produits alimentaires par la production des exopolysaccharides, ou des arômes en produisant des composés aromatiques (alcools, cétones, aldéhydes...) ou par le métabolisme des citrates, des acides aminés ou des graisses (Casalta et Montel, 2008). Il a été démontré par Leriche *et al.*, (1999) que la nisine produite par *L. lactis* est capable d'inhiber la multiplication de *L. monocytogenes* et par conséquent la conservation des produits alimentaires.

Exemples de lactocoques utilisés dans la décontamination

L. lactis est un exemple de bactéries lactiques qui peut adhérer à certaines surfaces abiotiques tels que le silicone (Ksontini *et al.*, 2013) et le polystyrène (Boonaert *et al.*, 2001) formant des biofilms (Giaouris *et al.*, 2009). Les protéines de surface des bactéries Gram-positif jouent un rôle crucial dans l'adhésion bactérienne aux surfaces (Radziwill-Bienkowska *et al.*, 2014).

Il a été démontré que les bactériocines de type Garvieacin Q ou GarQ produites par *L. garvieae* BCC 42578 isolé à partir d'œufs de poisson ont des activités antagonistes contre les biofilms de *L. monocytogenes* (Sonsa-Ard *et al.*, 2015 ; Woraprayote *et al.*, 2016).

L'objectif de ce travail est porté sur l'étude de l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface de deux souches de bactéries lactiques « *Lactobacillus paracasei* » et « *Lactococcus lactis* » et sur la capacité d'adhérer et de former des biofilms sur une surface abiotique (acier inoxydable).

Ce travail a été effectué au niveau du Laboratoire de Microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Jijel dans la période « Mai-Juin 2018 ».

1. Origine des souches utilisées

Les souches de bactéries lactiques utilisées dans notre étude sont : *Lactococcus lactis* et *Lactobacillus paracasei*. Ces dernières ont été isolées à partir de lait cru de vache. Les souches ont été identifiées génotypiquement par séquençage de l'ADNr 16S (Ait meddour, 2015).

2. Revivification des souches

Les souches de bactéries lactiques, conservées dans le bouillon MRS (Annexe I) à 4°C, sont repiquées dans 5 ml du même bouillon puis incubées à 30°C/24 h.

3. Vérification de la pureté de souches utilisées

Avant toute utilisation des souches, une vérification de leur pureté s'avère indispensable. Après quelques repiquages successifs, des tests rapides sont réalisés:

- Observation macroscopique de l'aspect des colonies obtenues après 24 h d'incubation sur gélose MRS (Annexe I),
- Observation microscopique de la couleur, de la forme, de la taille et du mode de regroupement des souches après une coloration de Gram (Annexe II),
- Test de la catalase.

4. Détermination de l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface bactérienne

4.1. En utilisant le xylène

Les souches de bactéries lactiques sont récoltées par centrifugation (centrifugeuse ROTINA 380R Hettick Zentrifugen, Allemagne) à 6000 g/20 min. Après centrifugation, le surnageant est écarté et les cellules sont lavées deux fois avec de l'eau physiologique stérile en procédant à deux centrifugations successives de 10 min à 6000 g. Après lavage des cellules bactériennes avec de l'eau physiologique stérile, elles sont resuspendues dans 3 ml d'une solution de KNO_3 à 0,1 M et l'absorbance (A_{620}) est mesurée à 620 nm. Un millilitre (1 ml) de xylène (Sigma-Aldrich, France) est ajouté à la suspension bactérienne pour former un système à deux phases (aqueuse et organique).

Après mélange au vortex pendant 2 min et un entreposage à température ambiante pendant 15 min, un volume de la phase aqueuse est prélevé délicatement pour mesurer l'absorbance (A_1) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (SPECORD 50 PLUS, ANALYTIKJENA, Allemagne) (Charalambos *et al.*, 2010). Enfin, le pourcentage d'hydrophobicité ou l'affinité ($A\%$) des surfaces cellulaires au xylène est calculé comme suit : $A\% = [1-(A_1/A_0)] \times 100$.

Où A_0 : l'absorbance initiale de la suspension bactérienne avant l'ajout du xylène ;

A_1 : l'absorbance de la phase aqueuse après l'ajout du xylène.

4.2. En utilisant l'hexadécane

Un volume de 2,4 ml de suspensions bactériennes ($A_0=0,8$) préparées dans de l'eau physiologique est mélangé avec 0,4 ml d'un solvant organique apolaire : l'hexadécane (Sigma-Aldrich) et mélangé au vortex pendant 1 min. Le mélange est laissé à décanter 15 min pour avoir une séparation complète entre les phases (organique et aqueuse). Ensuite, l'absorbance (A_1) de la phase aqueuse est mesurée par un spectromètre UV-visible (SPECORD 50 PLUS, ANALYTIK JENA, Allemagne). Le pourcentage de cellules ayant adhéré au solvant ($A\%$ ou l'affinité) est calculé par la même formule citée précédemment (Bellon-Fontaine *et al.*, 1996).

5. Adhésion sur supports solides

5.1. Choix du support solides

Au cours de cette étude, l'acier inoxydable austénitique AISI 316 L (Industrie d'inox, Nice France, largeur : 1 cm, longueur : 2 cm) d'une rugosité de 8 nm est utilisé. Le type AISI 316L contient du molybdène qui lui confère une résistance accrue à la corrosion en milieu chloré.

5.2. Procédure de nettoyage et de désinfection des supports

Dans le but d'éliminer les impuretés minérales et organiques, les supports en métal sont nettoyés et les traitements suivants sont appliqués (Bellon-Fontaine et Cerf, 1990 ; Chavant *et al.*, 2002) :

- Immersion dans de l'éthanol absolu (Sigma-Aldrich) pendant 10 min ;
- Lavage 10 min dans un détergent (Sigma-Aldrich) ;
- Rinçage avec de l'eau distillée stérile ;
- Enrobage dans un papier aluminium ;
- Autoclavage à 120°C/20 min.

5.3. Test d'adhésion par immersion

Des cultures de souches bactéries lactiques (10^8 UFC/ml) dans du bouillon MRS obtenues au bout de 18 h d'incubation à 30°C sont centrifugées à 6000 g/20 min. Après lavage, les culots bactériens sont remis en suspension dans une solution de (Tryptone-Sel) TS et dans du MRS. Les

I. Matériel et méthodes

supports d'aciers inoxydables AISI 316 L sont immergés dans 10 ml de cette suspension bactérienne dans des boîtes de Pétri stériles, puis incubés pendant 18 h à 30°C. Après incubation et élimination des bactéries non adhérentes sur les surfaces par lavage avec de l'eau physiologique stérile, les cellules adhérentes sont détachées par agitation vigoureuse pendant 2 min dans 20 ml de TS stérile (Teh *et al.*, 2011). Après agitation et préparation des dilutions, un dénombrement des bactéries viables est effectué en masse dans de la gélose MRS après une période d'incubation de 30°C/48h.

NB : 4 colonies de bactéries lactiques donnent après repiquage dans 9 ml de bouillon MRS et incubation à 30°C une charge de 10^8 UFC/ml (Ait meddour, 2015).

1. Vérification de la pureté des souches

- **Observation macroscopique**

Les colonies de bactéries lactiques obtenues sur gélose MRS ont été rondes de couleur blanchâtre, ou blanc-crème, avec un diamètre d'environ 1 mm. Les mêmes caractéristiques ont été observées par Carr *et al.*, (2002) et Badis *et al.*, (2005).

- **Observation microscopique**

L'observation microscopique après une coloration de Gram a montré que les souches ont été à Gram positif et ont une forme bacille.

- **Test de la catalase**

Ce test a montré que les deux souches bactériennes ont été catalase négative après dépôt de l'eau oxygéné sur les colonies cibles (absence d'effervescence).

2. Détermination de l'hydrophobicité/hydrophilicité de la surface bactérienne

L'hydrophobicité d'une bactérie est due en grande partie à la nature des composés présents à sa surface (Rosenberg et Doyle, 1990). Pour évaluer l'hydrophobicité de la surface des bactéries (*Lb. paracasei* et *L. lactis*), une étude de l'affinité de ces souches aux solvants (xylène et hexadécane) a été utilisée. L'hydrophobicité des cellules bactériennes a été mesurée à l'issue d'une phase aqueuse. Les résultats sont présentés sur la figure 3. La répartition des cellules entre la phase aqueuse et le solvant, résulte de l'interaction hydrophobe entre les bactéries et les hydrocarbures (Anwar *et al.*, 2013).

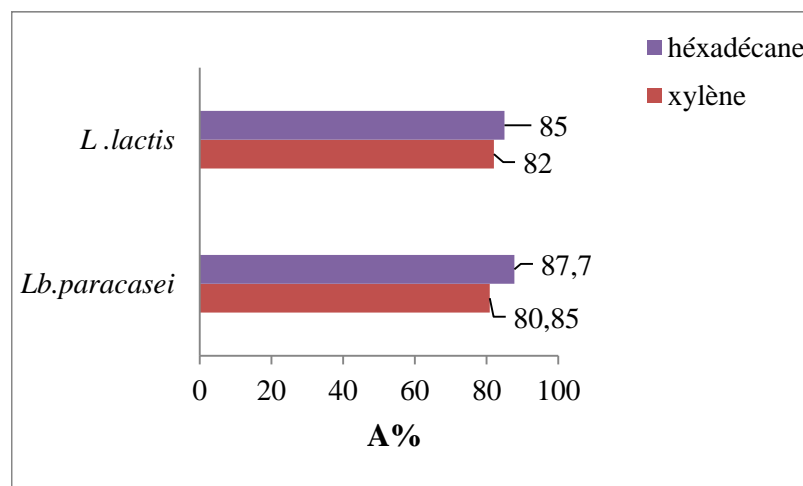


Fig. 3. Pourcentages d'affinité de *Lb. paracasei* et de *L. lactis* au xylène et à l'hexadécane

Selon Anwar *et al.*, (2013), les bactéries sont hydrophobes si le pourcentage d'affinité au xylène est élevé ($A\% > 50$) et selon Belon-fontaine *et al.*, (1996), une bactérie est hydrophobe si le pourcentage d'hydrophobicité est supérieur à 50%, hydrophile quand ce dernier est inférieur à 20% et si le

pourcentage est compris entre ces deux valeurs la bactérie est moyennement hydrophobe. De ce fait, les souches lactiques ont présenté un caractère très hydrophobe, car leur affinité pour le xylène a été de 80,85% pour *Lb. paracasei* et de 82% pour *L. lactis*. Pour l'hexadécane l'affinité a été de 87,70% pour *Lb. paracasei* et de 85 % pour *L. lactis*.

Il a été démontré par **Pelletier et al., (1997)**, que la surface des souches de bactéries lactiques, *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*, *Lb. casei* et *Lb. paracasei* présentent un caractère très hydrophobe. De même, **Anwar et al., (2013)**, ont rapporté que six souches appartenant au genre *Lactobacillus* possédaient un caractère hydrophobe et quatre souches de *Lb. casei* (BL23, BL90, BL193, BL212) ont été fortement hydrophobes avec un pourcentage d'affinité à l'hexadécane supérieur à 60% (**Makhloufi, 2011**). Le même caractère a été démontré pour les bactéries lactiques du genre *Enterococcus* et *Lactococcus* (**Pieniz et al., 2014**), ces auteurs ont rapporté que le caractère hydrophobe des bactéries lactiques est lié aux composants hydrophobes présents à leur surface et il a été suggéré que chez les bactéries à Gram positif, l'acide lipotéichoïque est impliqué dans les interactions hydrophobes. Ces dernières jouent un rôle important dans l'adhésion de ces bactéries sur un support hydrophobe.

Pelletier et al., (1997), ont rapporté que la présence de matériel protéique (glycol) entraîne une augmentation d'hydrophobie, alors que les surfaces hydrophiles sont associées à la présence de polysaccharides.

Plusieurs auteurs ont rapporté que l'hydrophobicité peut augmenter avec le taux de protéines membranaires présentes à la surface de la bactérie et diminuer par la présence de composés de nature polysaccharidique (**Mozes et al., 1988**).

Plusieurs études ont montré qu'une inhibition au niveau de la sécrétion des protéines a pour conséquence une perte d'hydrophobicité (**McEldowney et Fletcher, 1986 ; Neu, 1996 ; Jana, 2000**). De plus, l'hydrophobicité des bactéries peut différer entre les espèces avec la variation de l'état physiologique des cellules et la composition des milieux de cultures (**Nwanyanwu et al., 2012**).

3. Adhésion sur l'acier inoxydable

Bien que les mécanismes fondamentaux qui régissent l'adhésion bactérienne soient encore mal compris et n'ont donc pas été complètement définis, il est admis que les propriétés physicochimiques de la surface bactérienne et celles des supports solides sont des facteurs déterminant de l'adhésion initiale (**Bayoudh et al., 2006**). Les tests d'adhésion réalisés ont permis de comparer la capacité de chaque souche bactérienne à adhérer sur le support solide (aciers inoxydables AISI 316 L). Les essais d'adhésion ont été appliqués dans du TS (Tryptone-Sel) et dans du MRS et les dénombrements de cellules viables adhérentes ont été réalisés après 18 h de contact.

Résultats et discussion

Sur l'acier inoxydable AISI 316 L présentant un caractère hydrophobe, les résultats obtenus ont montré que les deux souches lactiques ont été capables d'adhérer sur ce dernier. Les résultats de ce test sont illustrés sur les figures 4.

La souche de *Lb. paracasei* a présenté une adhésion d' $\approx 7,18$ log UFC/cm² lors qu'elle est cultivée dans le MRS. Par contre dans le TS la bactérie a présenté un faible taux d'adhésion d' $\approx 4,3$ log UFC/cm².

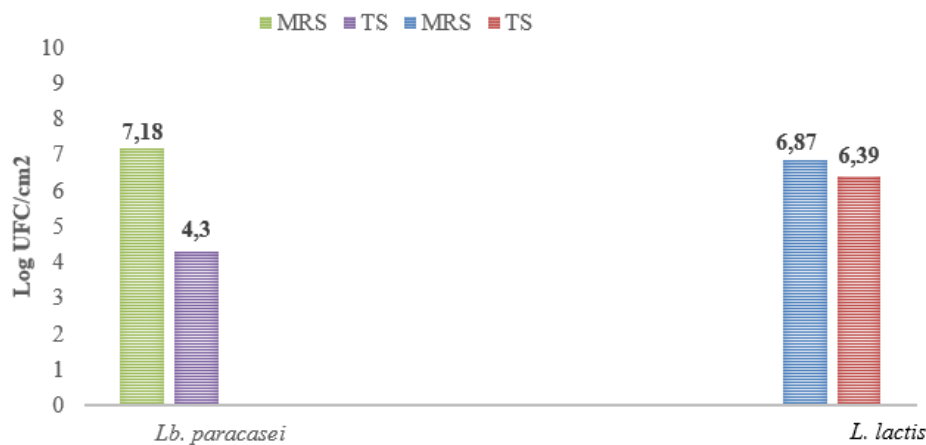


Fig. 4. Adhésion de *Lb. paracasei* et de *L. lactis* sur l'acier inoxydable AISI 316 L immergé dans une solution de TS et dans le MRS

La souche de *L. lactis* a présenté une adhésion d' $\approx 6,87$ log UFC/cm² dans le MRS et une adhésion de 6,39 log UFC/cm² dans le TS.

Sur la base des résultats obtenus, la souche de *Lb. paracasei* a présenté une meilleure adhésion dans le MRS. L'adhésion de *L. lactis* était meilleur que *Lb. paracasei* dans le TS.

Certains auteurs considèrent que l'hydrophobicité de la surface bactérienne est le paramètre clé qui gouverne l'adhésion bactérienne aux supports inertes (Cappello et Guglielmino, 2006). Il est donc admis que les bactéries hydrophobes ont tendance à adhérer sur un substrat hydrophobe et les bactéries hydrophiles ont tendance à adhérer sur un substrat hydrophile (Bellon-Fontaine et al., 1990). Conformément à ces données bibliographiques, nous avons remarqué que les souches lactiques possédant un caractère hydrophobe ont adhéré sur l'acier inoxydable surface (hydrophobe).

Plusieurs travaux antérieurs ont montré que l'adhésion des bactéries hydrophobes est généralement supérieure à celle des bactéries hydrophiles car une bactérie hydrophobe aura plus de facilité pour enlever le film d'eau la séparant de la surface à coloniser et qu'elle établira plus facilement

contact avec cette surface, qu'une bactérie hydrophile (**Bruinsima et al., 2001 ; Gallardo-Moreno et al., 2002 ; Bayouhd et al., 2006**).

En outre, d'autres auteurs sont suggérés qu'il existe une corrélation positive entre le degré d'hydrophobicité bactérienne et l'adhésion sur les surfaces abiotiques hydrophobes (**M'Hamedi, 2015**).

Les acides teichoïques et lipoteichoïques composants spécifiques des bactéries à Gram positif en raison de leur caractère polyanionique et de leur caractère hydrophobe semblent également exercer un effet sur l'adhésion de ces bactéries par la modification des propriétés physicochimiques de la paroi bactérienne (**Burgain et al., 2014**).

Habimana et al., (2014), ont démontré que la fixation bactérienne dans les milieux aquatiques implique généralement des groupes hydrophobes de la paroi cellulaire, en particulier ceux composés de protéines de la surface des groupes non polaires. Pour *L. lactis*, la protéase PrtP ancrée dans la paroi est importante pour l'adhésion et l'amélioration de l'hydrophobicité de la surface cellulaire parce qu'elle augmente les interactions attractives de la cellule (van der Waals).

Cependant, le phénomène d'adhésion ne peut pas être traité seulement en raisonnant par rapport à l'hydrophobicité mais en prenant en compte d'autres paramètres tel que le caractère acide-base, la charge globale, l'énergie libre et la rugosité des supports qui constituent les principaux facteurs contrôlant l'adhésion initiale bactérienne (**Bayouhd et al., 2006**).

Dans le cas de *Lb. paracasei* certains composés sont souvent impliqués dans l'adhésion par exemple les biosurfactants (**Gudina et al., 2010**) et les protéines de la couche S (**Mobili et al., 2009**).

Les résultats de notre étude ont également montré que les souches bactériennes ont mieux adhéré sur les supports solides par immersion dans le MRS que dans une solution de TS. La présence d'éléments nutritifs dans le MRS en particulier les protéines peuvent influencer positivement l'adhésion. Il a été démontré que la formation de biofilms par *L. monocytogenes* varie en fonction du milieu de culture utilisé (**Folsom et al., 2006**). Ces conditions peuvent causer des changements dans les propriétés de surface des cellules, telle que l'hydrophobicité (**Chavant et al., 2002**). D'autre part **Reynolds et Fink (2001)**, soulignent qu'une diminution de la concentration en glucose dans le milieu provoque une augmentation de l'adhésion de *Sc. cerevisiae* sur des surfaces en plastique car les conditions environnementales sont dans ce cas peu favorables à la croissance sous forme planctonique. Les microorganismes peuvent également obtenir des nutriments ou des éléments nécessaires à leur croissance en provenance de la surface solide après dégradation (composés organiques issus des plastiques, cations métalliques issus de la biocorrosion d'acier ou d'autres métaux) (**Mansfeld, 2007**).

La formation de biofilms par des bactéries pathogènes et/ou d'altération dans les environnements de production et de transformation des aliments et la difficulté de leur éradication sont devenues un sujet de préoccupation pour les fabricants de produits alimentaires.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'adhésion des souches de bactéries lactiques reconnues inoffensives et sans risque pour la santé humaine (statut « GRAS ») sur un support communément rencontré au contact des aliments (acier inoxydable). Etant donné que l'adhésion bactérienne est un phénomène qui résulte d'interactions entre le support d'adhésion et les bactéries présentes dans le milieu environnant et qui met donc en jeu les propriétés de surface des bactéries et celles des supports, une étude de l'hydrophobicité de la surface des bactéries en utilisant le xylène et l'hexadécane a été utilisée. Les résultats ont clairement révélé que les souches lactiques ont été hydrophobes avec une hydrophobicité >> à 50%.

L'adhésion des bactéries a été suivie par un dénombrement des cellules viables cultivables (UFC/cm²) en utilisant le MRS et le TS. Les résultats ont clairement montré que les souches lactiques, *Lb. paracasei* et *L. lactis* ont adhéré sur les supports après 18 h de contact (temps testé).

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont prometteurs ce qui ouvre de nouvelles voies d'investigation pour :

- (1) Mieux comprendre les mécanismes d'adhésion microbienne aux supports solides,
- (2) Mettre en place une nouvelle stratégie de lutte contre les biofilms :
 - En exploitant l'effet barrière des bactéries lactiques en ateliers fromagères,
 - En utilisant leurs métabolites antibactériens (bactériocines, enzymes, biosurfactants) dans la formulation de nouveaux produits de nettoyage et de désinfection.

A

- **Ait meddour A. 2015.** Isolement et selection des souches de bactéries lactiques pour lutter contre les biofilms pathogènes et d'altération. Thèse de Doctorat de l'Université de Béjaïa en science biologique p 70.
- **Allesen-Holm M, Barken K B, Yang L, Klausen M, Webb J S, Kjelleberg S, Molin S, Givskov M, Tolker-Nielsen T. 2006.** A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms. *Molecular Microbiology* **59**: 1114-1128.
- **An Y H, Friedman R J. 1998.** Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research* **43**: 338-348.
- **Anwar A A, Thikra A A, Saeed A M. 2013.** Adhesion, auto-aggregation and hydrophobicity of six *Lactobacillus* strains. *British Microbiology Research Journal* **4**: 381-391.
- **Arnold J W, Bailey G W. 2000.** Surface finishes on stainless steel reduce bacterial attachment and early biofilm formation: scanning electron and atomic force microscopy study. *Poultry Science* **79**: 1839-1845.
- **Atabek A, Camesano T A. 2007.** Atomic force microscopy study of the effect of lipopolysaccharides and extracellular polymers on adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology* **189**: 8503-8509.
- **Austin J W, Bergeron G. 1995.** Development of bacterial biofilms in dairy processing lines. *Journal of Dairy Research* **62**: 509-519.

B

- **Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M, Ouzrout R. 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de Deux populations caprines locales Arrabia et Kabyle. *Sciences et Technologies* **23**: 30-37.
- **Bakker D P, Busscher H J, Zanten J V, Vries J D, Klijnsstra J W, van der Mei H C. 2004.** Multiple linear regression analysis of bacterial deposition to polyurethane coatings after conditioning film formation in the marine environment. *Microbiology* **150**: 1779-1784.
- **Bayoudh S, Othmane A, Bettaieb F, Bakhrouf A, Ben Ouada H, Ponsonnet L. 2006.** Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Material Science and Engineering* **26**: 300-305.
- **Bazaka K, Jacob M V, Crawford J R, Ivanova E P. 2012.** Efficient surface modification of biomaterial to prevent biofilm formation and the attachment of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* **95**: 299-311.
- **Bellon-Fontaine M N, Cerf O. 1990.** Experimental determination of spreading pressure in solid/liquid/vapour systems. *Journal of Adhesion Science and Technology* **4**: 475-480.
- **Bellon-Fontaine M N, Rault J, Oss C J V. 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**: 47-53.
- **Beloin C, Houry A, Froment M, Ghigo G M, Henry N. 2008.** A short time scale colloidal system reveals early bacterial adhesion dynamics and adhesin-dependent behaviours. *Plos Biology* **167**: 15449-1558.

- **Boonaert C J P, Dufrene Y F, Derclaye S R, Rouxhet P G. 2001.** Adhesion of *Lactococcus lactis* to model substrata: direct study of the interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **22**: 171-182.
- **Bos R, Van der Mei H C, Busscher H J. 1999.** Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions-its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiology Reviews* **23**: 179-230.
- **Boulangé-Petermann L. 1996.** Process of bio-adhesion on stainless steel surfaces and cleanability: a review with special reference to food industry. *Biofouling* **4**: 275-300.
- **Boulangé-Petermann L, Rault J, Bellon-Fontaine M N. 1997.** Adhesion of *Streptococcus thermophilus* to stainless steel with different surface topography and roughness. *Biofouling* **11**: 201-216.
- **Bremer P, Seale B, Flint S, Palmer J. 2009.** Biofilms in dairy processing. *Biofilm in the foods and Beverage Industries* **876**: 396-431.
- **Briandet R, Meylheuc T, Maher C, Bellon-Fontaine M N. 1999.** *Listeria monocytogenes* Scott A: cell surface charge, hydrophobicity and electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* **65**: 5328-5333.
- **Briandet R. 1999.** Maîtrise de l'hygiène des surfaces par la création de biofilms – aspects physicochimiques. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Rennes (France), 200 p.
- **Bruinsma G M, Van der Mei H C, Busscher H J. 2001.** Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials* **22**: 3217-3224.
- **Burgain J, Scher J, Francius G, Borges F, Corgneau M, Revol-Junelles A M, Cailliez-Grimal C, Gaian 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.

C

- **Cappello S, Guglielmino P P. 2006.** Effects of growth temperature on polystyrene adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853. *Brazilian Journal of Microbiology* **37**: 205-207.
- **Carr F J, Chill D, Maida N. 2002.** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology* **28**: 281-370.
- **Casalta E, Montel M C. 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactococcus* genus. *International Journal of Food Microbiology* **126**: 271–273.
- **Charalambos K, Andreas K, Evanthia L T, Nikolas T, Minas Y. 2010.** Evaluation of adhesion capacity, cell surface trait and immunomodulatory activity presumptive probiotic of *Lactobacillus* strains. *International Journal of Food Microbiology* **140**: 154-163.
- **Chavant P, Martinie B, Meylheuc T, Bellon-Fontaine M N, Hebraud M. 2002.** *Listeria monocytogenes* LO28: Surface physicochemical properties and ability to form biofilms at different temperatures and growth phases. *Applied and Environmental Microbiology* **68**: 728–737.
- **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**: 22-32.
- **Coghlan A. 1996.** Slime city. *New Science* **2045**: 32-36.

- **Costerton J W, Geesey G G, Cheng G K. 1978.**How bacteria stick. *Scientific American* **238**: 86-95.
- **Costerton J W, Lappin-Scott H M. 1989.** Behavior of bacteria in biofilms. *ASM News* **55**:650-654.
- **Costerton J W, Lewandowski Z, De Beer D, Caldwell D, Korber D, James G. 1994.** Minireview: biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology***176**: 2137-2142.
- **Costerton J W, Lewandowski Z, Caldwell D E, Korber DR, Lappin-Scott H M. 1995.** Microbial biofilms. *Annual Review in Microbiology* **49**: 711-745.
- **Costerton J W, Stewart P S, Greenberg E P. 1999.** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* **284**: 1318-1322.
- **Cucarella C, Solano C, Valle J, Amorena B, Lasa I, Penades J R. 2001.**BAP, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *Journal of Bacteriology* **183**: 2888–2896.

D

- **De Roissart H. 1986.** Bactérie lactiques, p.343.*In* F. M. Luquet(ed.),Laits: vache,brebis,chèvre, vol. 3. Lavoisier, Paris.
- **De Roissart H, Luquet FM. 1994.** Les bactéries lactiques. Edition Uriage, Lorica (Paris), vol. 1. pp. 1-286.
- **Dessaigne S, Herry J.M, Briandet R. (2008).** Les biofilms microbiens, des écosystèmes structurés qui colonisent les surfaces. UBHM. *Inra Agro Paris Tech.* pp. 1-3.
- **Donlan R M, Costerton J W. 2002.** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Review* **15**: 167-193.
- **Donlan R M. 2002.** Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases* **8**: 881-890.
- **Donlan R M. 2009.** Preventing biofilms of clinically relevant organisms using bacteriophages. *Trends in Microbiology***17**: 66-72.

E

- **Faille C, Jullien C, Fontaine F, Bellon-Fontaine M N, Slomianny C, Benezech T.2002.** Adhesion of *Bacillus* spores and *Escherichia coli* cells to inert surfaces: role of surface hydrophobicity. *Revue canadienne de microbiologie* **48**: 728-738.
- **Faille C, Carpentier B. 2009.** Food contact surfaces, surface soiling and biofilm formation. *Biofilm in the foods and Beverage Industries* 304-330.
- **Flint S H, Bremer P J, Brooks J D. 1997.** Biofilms in dairy manufacturing plant – description, current concerns and methods of control. *Biofouling* **11**: 81–97.
- **Folsom J P, Siragusa G R, Frank J F. 2006.** Formation of biofilm at different nutrient levels by various genotypes of *L. monocytogenes*. *Journal of Food Protection* **69**: 826–834.

G

- **Gallardo-Moreno A M, Gonzalez Martin M L, Pérez-Giraldo C, Garduno E, Bruque J M, Gomez-Garcia A C. 2002.** Thermodynamic Analysis of growth temperature dependence in the

- adhesion of *Candida parapsilosis* to polystyrene. *Applied and Environmental Microbiology* **68**: 2610-2613.
- **Giaouris E, Chapot-Chartier M P, Briandet R. 2009.** Surface physicochemical analysis of natural *Lactococcus lactis* strains reveals the existence of hydrophobic and low charged strains with altered adhesive properties. *International Journal of Food Microbiology* **131**: 2-9.
 - **Giaouris E, Heir E, Hébraud M, Chorianopoulos N, Langsrud S, Møretrø T, Habimana O, Desvaux M, Renier S, 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**: 298–309.
 - **Giotis E S, Blair L S, McDowell D A. 2009.** Effects of Short-Term Alkaline Adaptation on Surface Properties of *Listeria monocytogenes* 10403S. *The Open Food Science Journal* **3**: 62-65.
 - **Gomaa E M. 2013.** Antimicrobial and anti-adhesive properties of biosurfactant produced by *Lactobacilli* isolates, biofilm formation and aggregation ability. *The Journal of General and Applied Microbiology* **59**: 425-436.
 - **Gross M, Cramton S E, Gotz F, Peschel A. 2001.** Key role of teichoic acid net charge in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces. *Infection and Immunity* **69**: 3423–3421.
 - **Gudina E J, Teixeira J A, Rodrigues L A. 2010.** Isolation and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lactobacillus paracasei*. *Colloids and Surfaces B: Biointerface* **76**: 298-304.
 - **Guerrieri E, Niederhäusern S D, Messi P, Sabia C, Iseppi R, Anacarso I, Bond M. 2009.** Use of lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes* in a small-scale model. *Food Control* **20**: 861-865.

H

- **Habimana O, Meyrand M, Meylheuc T, Kulakauskas S, Briandet R. 2009.** Genetic features of resident biofilms determine attachment of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology* **75**: 7814–7821.
- **Habimana O, Correia-Semião A J C, Casey E. 2014.** The role of cell-surface interactions in bacterial initial adhesion and consequent biofilm formation on nanofiltration/reverse osmosis membranes. *Journal of Membrane Science* **454**: 82-96.
- **Hall-Stoodley L, Costerton, J W Stoodley P. 2004.** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews in Microbiology* **2**: 95-108.
- **Hall-Stoodley L, Stoodley P. 2009.** Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular Microbiology* **11**: 1034-1043.
- **Heukelekian H, Heller A. 1940.** Relation between food concentration and surface for bacterial growth. *Journal of Bacteriology* **40**: 547–58.
- **Hilbert R L, Bagge-Ravn D, Kold J, Gram L. 2003.** Influence of surface roughness of stainless steel on microbial adhesion and corrosion resistance. *International Biodeterioration and Biodegradation* **52**: 175-185.
- **Hori K, Matsumoto S. 2010.** Bacterial adhesion: From mechanism to control. *Biochemical Engineering Journal* **48**: 424-434.

- **Houry A, Gohar M, Deschamps J, Tischenko E, Aymerich S, Gruss A, Briandet R. 2012.** Bacterial swimmers that infiltrate and take over the biofilm matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**:13088-13093.
- **Husmark U, Ronner U. 1990.** Forces involved in adhesion of *Bacillus cereus* spores to solid surfaces under different environmental conditions. *Journal of Applied Bacteriology* **69**: 557-562.

J

- **Jana T K, Srivastava A K, Csery K, Arora D K. 2000.** Influence of growth and environmental conditions on cell surface hydrophobicity of *Pseudomonas fluorescens* in nonspecific adhesion. *Canadian Journal of Microbiology* **46**: 28–37.

K

- **Kaplan J B. 2010.** Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of dental research* **89**: 205-218.
- **Klausen M, Heydorn A, Ragas P, Lambertsen L, Aaes-Jørgensen A, Molin S, Tolker-Nielsen T. 2003.** Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Molecular Microbiology* **48**: 1511–1524.
- **König H, Fröhlich J. 2009.** Lactic Acid Bacteria. *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. pp 3-41.
- **Ksontini H, Kachouri F, Hamdi M. 2013.** Impact of *Lactococcus lactis* spp. *lactis* Bio Adhesion on Pathogenic *Bacillus cereus* Biofilm on Silicone Flowing System. *Indian Journal of Microbiology* **53**: 269–275.
- **Kubota H, Senda S, Nomura N, Tokuda H, Uchiyama H. 2008.** Biofilm formation by lactic acid bacteria and resistance to environmental stress. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **106**: 381-386.
- **Kubota H, Senda S, Tokuda H, Uchiyama H, Nomura N. 2009.** Stress resistance of biofilm and planktonic *Lactobacillus plantarum* subsp. *Plantarum* JCM 1149. *Food Microbiology* **26**: 592–597.
- **Kuchma S L, Connolly J P, O’Toole GA. 2005.** A three-component regulatory system regulates biofilm maturation and type III secretion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology* **187**: 1441-1454.

L

- **Landoulsi J, Genet M G, Richard C, El Kirat K, Pulvin S, Rouxhet P G. 2008.** Evolution of the passive film and organic constituents at the surface of stainless steel immersed in fresh water. *Journal of Colloid and Interface Science* **318**: 278-289.
- **Lebeer S, De Keersmaecker S J, Verhoeven T L A, Fadda A A, Marchal K, Vanderleyden J. 2007.** Functional analysis of *luxS* in the probiotic strain *Lactobacillus*

- rhamnosus* GG reveals a central metabolic role Important for growth and biofilm formation. *Journal of Bacteriology* **189**: 860–871.
- **Leriche V, Chassaing D, Carpentier B. 1999.**Behaviour of *Listeria monocytogenes* in an artificially made biofilm of a nisin-producing strain of *Lactococcus lactis*. *International Journal of Food Microbiology* **51**: 169-182.
 - **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**: 594-605.
 - **Long G, Zhu P, Shen Y, Tong M. 2009.** Influence of extracellular polymeric substances (EPS) on deposition kinetics of bacteria. *Environmental Science and Technology* **43**: 2308-2314.
 - **Lorite G S, Rodrigues C M, Souza A A D, Kranz C, Mizaikoff B, Cotta M A. 2011.** The role of conditioning film formation and surface chemical changes on *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm evolution. *Journal of Colloid and Interface Science* **359**: 289-295.
 - **Lozo J, Jovcic B, Kojic M, Dalgalarrrondo M, Chobert J M, Haertlé T, Topisirovic L. 2007.** Molecular Characterization of a Novel Bacteriocin and an Unusually Large Aggregation Factor of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8, a Natural Isolate from Homemade Cheese. *Current Microbiology* **55**: 266–271.

M

- **Makhloufi K M. 2011.** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Lc. Pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de Doctorat. Université Pierre et Marie Curie, Paris (France), 203 p.
- **Mansfeld F. 2007.** The interaction of bacteria and metal surfaces. *Electrochimica Acta* **52**: 7670-7680.
- **Marchand S, De Block J, De Jonghe V, Coorevits A, Heyndrickx M, Herman L. 2012.** Biofilm formation in milk production and processing environments; influence on milk quality and safety. *Comprehensive Reviewers in Food Science and Food Safety* **11**: 133–147.
- **Martines E, Seunarine K, Morgan H, Gadegaard N, Wilkinson C D W, Riehle M O. 2005.** Superhydrophobicity and superhydrophilicity of regular nanopatterns. *Nano Letters* **5**: 2097–2103.
- **Mattu B, Chauhan A. 2013.** Lactic Acid Bacteria and Its Use in Probiotics. *Journal of Bioremediation and Biodegradation* **4**: e140. doi:10.4172/2155-6199.1000e140.
- **McEldowney S, Fletcher M. 1986.** Variability of the influence of physicochemical factors affecting bacterial adhesion to polystyrene substrata. *Applied and Environmental Microbiology* **52**: 460-465.
- **Mei L H C, van der Mei Y, Ren W, Norde H J, Busscher H J. 2009.** Poisson analysis of streptococcal bond strengthening on stainless steel with and without a salivary conditioning film. *Langmuir*, DOI: 10.1021/la9000494.
- **M'Hamedi I. 2015.** Evaluation de la formation de biofilms des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen .Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. pp 187

- **Mobili P, Serradell M D L A, Trejo S A, Puigvert F X A, Abraham A G, Antoni G L D. 2009.** Heterogeneity of S-layer proteins from aggregating and non-aggregating *Lactobacillus kefir* strains. *Antonie van Leeuwenhoek* **95**: 363–372.
- **Mozes N A, Léonard J, Rouxhet P G. 1988.** On the relations between the elemental surface composition of yeasts and bacteria and their charge and hydrophobicity. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes* **945**: 324-334.

N

- **Neu T R. 1996.** Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces. *Microbiology Reviews* **60**: 151–166.
- **Nwanyanwu C E, Alisi C S, Nweke C O, Orji J C. 2012.** Cell surface properties of phenol-utilizing bacteria solated from petroleum refinery wastewater. *Journal of Research in Biology* **4**: 383-391.

O

- **Oxaran V, Ledue-Clier F, Dieye Y, Herry J M, Péchoux C, Meylheuc T, Briandet R, Juillard V, Piard J C. 2012.** Pilus Biogenesis in *Lactococcus lactis*: Molecular Characterization and Role in Aggregation and Biofilm Formation. *PLOS ONE* **7**: 1-18.

P

- **Palmer J S, Flint S H, Brooks J. 2007.** Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **34**: 577–588.
- **Parot S. 2007.** Biofilms électroactifs : formation, caractérisation et mécanisme. Thèse de Doctorat. Spécialité : Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, pp. 3-10. 247p.
- **Pieniz S, Martin de Moura T, Vaz Cassenego A P, Andrezza R, Guedes Frazzon A P, Faciode Oliveira Camargo F, Brandelli A. 2014.** Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *En. Durans* with potential probiotic effect. *Food Control* **51**: 49-54.
- **Pelletier C, Bouley C, Cayuela A C, Bouttier S, Ierr E Bourlioux A, Bellon-fontaine M N. 1997.** Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Applied and Environmental Microbiology* **63**: 1725-1731.
- **Pratt L A, Kolter R. 1998.** Genetic analysis of *E. coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular Microbiology* **30**: 285-293.

R

- **Radziwill-Bienkowska J M, Zochowska D, Bardowski J, Mercier- Bonin M, Kowalczyk M. 2014.** *Lactococcus lactis* IBB477 presenting adhesive and muco-adhesive properties as a candidate carrier strain for oral vaccination against influenza virus. *The Journal of the Polish*

Biochemical Society and of the Committee of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Science **61**: 603–607.

- **Radziwill-Bienkowska J M, Le D T L, Szczesny P, Duviau M P, Aleksandrzak-Piekarczyk T, Loubière P, Mercier-Bonin M, Bardowski J K, Kowalczyk M. 2016.** Adhesion of the genome-sequenced *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* IBB477 strain is mediated by specific molecular determinants. *Applied Microbiology and Biotechnology* **100**: 9605–9617.
- **Rammelsberg M, Müller E, Radler F. 1990.** Caseicin 80: purification and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus casei*. *Archives of Microbiology* **154**: 249–252.
- **Reynolds T B, Fink R G. 2001.** Bakers' yeast, a model for fungal biofilm formation. *Science* **291**: 878-881.
- **Riedwald F. 2006.** Bacterial Adhesion to Surfaces: The Influence of Surface Roughness. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **60**:164-171.
- **Rodrigues L R, van der Mei H C, Teixeira J A, Oliveira R. 2004.** Biosurfactant from *Lactococcus lactis* 53 inhibits microbial adhesion on silicone rubber. *Applied Microbiology and Biotechnology* **66**: 306–311.
- **Rodriguez A, Autio W R, McLandsborough L A. 2008.** Effect of surface roughness and stainless steel finish on *Listeria monocytogenes* attachment and biofilm formation. *Journal of Food Protection* **71**: 170-176.
- **Rosenberg M, Gutnick D, Rosenberg E. 1980.** Adherence of bacteria to hydrocarbons. *FEMS Microbiology Letters* **9**: 29-33.
- **Rosenberg M, Doyle R J. 1990.** Microbial cell surface hydrophobicity: history, measurement, and significance. In Doyle RJ et Rosenberg M (ed.). *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. ASM 138p.

S

- **Saad H, Ready D, Jasni A Z, Rogers M, Pratten J, Roberts A P. 2010.** Transfer of antibiotic resistance by transformation with eDNA within oral biofilms. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* **59**: 345–349.
- **Sauer K, Camper A K, Ehrlich G D, Costerton J W, Davies D G. 2002.** *Pseudomonas aeruginosa* Displays Multiple Phenotypes during Development as a Biofilm. *Journal of Bacteriology* **184**: 1140-1154.
- **Shrout J D, Chopp D L, Just C L, Hentzer M, Givskov M, Parsek M R. 2006.** The impact of quorum sensing and swarming motility on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation is nutritionally conditional. *Molecular Microbiology* **62**:1264–1277.
- **Singh R, Debarati F, Rakesh K J. 2006.** Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology* **14**:389-397.
- **Socransky S S, Haffajee A D, Cugini MA, Smith C, Kent-Jr R L. 1998.** Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology* **25**:134-144.
- **Speranza B, Sinigaglia M, Corbo M R. 2009.** Non starter lactic acid bacteria biofilms: A means to control the growth of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. *Food Control* **20**: 868–865.

- **Stoodley P, de Beer D, Lappin-Scott H M. 1997.** Influence of electric fields and pH on biofilm structure as related to the bioelectric effect. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **41**: 1876-1879.

T

- **Teh K H, Flint S, Palmer J, Lindsay D, Andrews P, Bremer P. 2011.** Thermoresistant enzyme-producing bacteria isolated from the internal surfaces of raw milk tankers. *International Dairy Journal* **21**: 742-747.
- **Tremblay Y D N, Hathroubi S, Jacques M. 2014.** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research* **78**: 110-116.

V

- **Van Houdt R, Michiels C W. 2010.** Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of Applied Microbiology* **109**: 1117-1131.
- **Vu B, Chen M, Crawford R J, Ivanova E P. 2009.** Bacterial Extracellular Polysaccharides Involved in Biofilm Formation. *Molecules* **14**: 2535-2554.

W

- **Winkelstroter L K, Gomes B C, Thomas M R S, Souza V M, Martinis C P. 2011.** *Lactobacillus sakei* 1 and its bacteriocin influence adhesion of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. *Food Control* **22**: 1404-1407.
- **Winkelstrôter L K, Teixeira F B D R, Silva E P, Alves V F, Martinis E C P D. 2014.** Unraveling Microbial Biofilms of Importance for Food Microbiology. *Microbial Ecology* **68**: 35-46.
- **Woraprayote W, Malila Y, Sorapukdee S, Swetwivathana A, Benjakul S, Visessanguan W. 2016.** Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science* **120**: 118-132.

X

- **Xue C, Zhang L, Fan R, Wang S, Li H, Luo X, Liu W, Song W. 2015.** Protective action of S-layer proteins from *Lactobacillus paracasei* M7 against *Salmonella* infection and mediated inhibition of *Salmonella*-induced apoptosis. *European Food Research and Technology* **240**: 923-929.

Z

- **Zobell C E. 1943.** The effect of solid surface upon bacterial activity. *Journal of Bacteriology* **46**: 39-56.

Annexe I : composition des milieux de culture (pour 1 litre d'eau distillée)

(Suivant les fournisseurs)

Gélose MRS (Man, Rogosa et Sharpe)

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	8g
Extrait de levure.....	4 g
Glucose.....	20 g
Acétate de sodium trihydraté.....	5 g
Citrate d'ammonium	2 g
Tween 80.....	1 ml
Hydrogénophosphate de potassium.....	2 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0, 2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté.....	0,05 g
Agar.....	15 g

pH = 6,5

Autoclaver 15 min à 120°C

Bouillon MRS (Man, Rogosa et Sharpe)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	8 g
Extrait de levure	4 g
Glucose.....	20 g
Acétate de sodium trihydraté.....	5 g
Citrate d'ammonium	2 g
Tween 80.....	1 ml
Hydrogénophosphate de potassium.....	2 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté.....	0, 05 g

pH = 6,5

Autoclaver 15 min à 120°C

Eau physiologique

Eau distillée	1l
Chlorure de sodium	9g

Autoclaver 15min à 120°C

Tryptone-Sel (TS)

Peptone	10g
Les chlorures de sodium (NaCl).....	5g

pH =7.5

Autoclaver 15min à 120°C

Annexe II : coloration de Gram

La coloration de Gram se réalise par les étapes suivantes :

- Préparation d'un frottis : étalement de la suspension bactérienne sur une lame puis fixation par la chaleur,
- Coloration au violet de gentiane pendant une minute,
- Lavage à l'eau,
- Mordançage au lugol durant 30 secondes,
- Lavage à l'eau,
- Décoloration à l'éthanol,
- Lavage à l'eau,
- Contre coloration avec de la Fuchsine pendant 1 à 2 minutes,
- L'ajout de quelques gouttes de l'huile à immersion
- Observation après séchage (objectif X 100).

Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

Présenté par : Berkat Laila & Laib lynda

Président : M^r Khennouf T

Examineur : Pr Sifour M

Encadreur : Dr Ait Meddour A.

Adhésion et propriétés de surface de deux souches de bactéries lactiques *Lactobacillus paracasei* et *Lactococcus lactis*

Résumé

Deux souches de bactéries lactiques, *Lb.paracasei* et *L.lactis* ont été utilisées pour étudier l'hydrophobicité de leur surface en appliquant la méthode d'adhésion aux solvants (xylène et l'hexadécane) et leur capacité d'adhérer sur un support solide (acier inoxydable AISI 316 L). Les résultats de notre étude ont montré que les deux souches ont un caractère hydrophobe et elles ont une bonne capacité d'adhésion sur l'acier inoxydable, ce qui leur confère l'avantage d'être utilisées comme biofilms positifs pour la lutte contre les biofilms négatifs formés de bactéries pathogènes et d'altération.

Mots clés : bactéries lactiques, adhésion, hydrophobicité, biofilms positifs.

Abstract

Two strains of lactic acid bacteria, *Lb. paracasei* and *L. lactis* were used to study the hydrophobicity of their surface by applying the solvent adhesion method (xylene and hexadecane) and their ability to adhere to a solid support (AISI 316 L stainless steel). The results of our study showed that both strains have a hydrophobic character and have good adhesion to stainless steel, which gives them the advantage of being used as positive biofilms for the fight against negative biofilms formed from pathogenic and alteration bacteria .

Key words: lactic acid bacteria, adhesion, hydrophobicity, positive biofilms.

المخلص

تم استخدام سلالتين من بكتيريا حمض اللاكتيك، *L. Lactis* و *Lb. paracasei* من اجل دراسة الخاصية الكارهة للماء لسطحيهما من خلال تطبيق طريقة التصاق المذيب وقدرتهما على الالتصاق بسطح صلب (الفولاذ المقاوم للصدأ AISI 316 L). أظهرت نتائج دراستنا أن كلتا السلالتين لهما خصائص سطحية كارهة للماء و التصاق جيد مع الفولاذ المقاوم للصدأ، وهذا ما يمنحهما قابلية في استخدامهما كأغشية حيوية إيجابية لمحاربة الأغشية الحيوية السلبية المكونة من البكتيريا الممرضة والمسببة للتلف.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك، الالتصاق، الخاصية الكارهة للماء، الأغشية الحيوية الايجابية.