

TABLE DE MATIERE

| | |
|--|------|
| <i>Dédicaces</i> | i |
| REMERCIEMENT | ii |
| VALORISATION DES TRAVAUX DE THESE | iv |
| RESUME | ix |
| ABSTRACT | xi |
| ملخص | xii |
| LISTE DES TABLEAUX | xiii |
| LISTE DES FIGURES | xvi |
| LISTE DES ABREVIATIONS | xix |
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |

PREMIERE PARTIE :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--|----|
| CHAPITRE I : HYGIENE DES SURFACES EN MILIEU AGROALIMENTAIRE | 6 |
| <i>Résumé</i> | 6 |
| INTRODUCTION..... | 6 |
| I. Hygiène des surfaces dans les industries alimentaires | 7 |
| II. Recherches scientifiques en Hygiène des surfaces – Biofilms..... | 9 |
| III. Organismes de normalisation et certification en hygiène des surfaces des équipements..... | 10 |
| III.1. European Hygienic Engineering Design Group (EHEDG) | 10 |
| III.2. Normes 3-A Sanitary Standards Inc. (3-A SSI)..... | 11 |
| IV. Critères de conception hygiénique des équipements agroalimentaires..... | 11 |
| IV.1. Exigences fonctionelles | 12 |
| IV.2. Conception hygiénique et fabrication..... | 13 |
| CONCLUSION | 16 |
| CHAPITRE II : BIOFILMS DANS LES ENVIRONNEMENTS AGROALIMENTAIRES | 18 |
| <i>Résumé</i> | 18 |
| INTRODUCTION..... | 18 |
| I. Présence de biofilms bactériens en environnement agroalimentaire et conséquences | 19 |
| I.1. Formation de biofilms | 21 |
| I.2. Variables influençant le développement du biofilm | 22 |
| I.3. Substances polymériques extracellulaire (EPS)..... | 23 |
| I.4. Rôle des EPS dans la consolidation du biofilm bactérien..... | 24 |

| | |
|--|-----------|
| I.5. Communication intercellulaire | 24 |
| CHAPITRE III : APPLICATION DE LA PHYSICO-CHIMIE DES SURFACES DANS L'ETUDE DE L'ADHESION DES MICROORGANISMES | 26 |
| <i>Résumé</i> | 26 |
| INTRODUCTION | 26 |
| I. Mécanismes d'adhésion bactérienne à une surface inerte | 27 |
| II. Forces d'interactions..... | 28 |
| II.1. Interactions électrostatiques | 29 |
| II.2. Interactions non électrostatiques | 30 |
| III. Théories..... | 33 |
| III.1. Théorie DLVO appliquée à l'étude de l'adhésion des microorganismes | 33 |
| III.2. Thermodynamique des surfaces : application à l'adhésion microbienne | 36 |
| III.3. Théorie DLVO étendue | 38 |
| IV. Facteurs influençant l'adhésion bactérienne..... | 38 |
| IV.1. Facteurs liés au micro-organisme | 38 |
| IV.2. Facteurs liés à la surface solide | 39 |
| IV.3. Facteurs liés au milieu environnant | 41 |
| CONCLUSION | 41 |
| CHAPITRE IV : MATERIAUX UTILISES EN INDUSTRIES ALIMENTAIRES : CAS DES ACIERS INOXYDABLES | 42 |
| <i>Résumé</i> | 42 |
| INTRODUCTION..... | 42 |
| I. Matériaux en agroalimentaires..... | 42 |
| II. Aciers inoxydables | 42 |
| II.1. Généralités et principales catégories | 43 |
| II.2. Corrosion et passivité des aciers inoxydables | 44 |
| II.3. Finitions des aciers inoxydables | 45 |
| II.4. Rugosité de surface | 45 |
| CONCLUSION | 46 |
| CHAPITRE V : DESINFECTION DES EQUIPEMENTS ET RESISTTANCE DES BIOFILMS EN MILIEU AGRO-ALIMENTAIRES | 47 |
| <i>Résumé</i> | 47 |
| INTRODUCTION..... | 47 |
| I. Désinfection et critères de choix des désinfectants | 48 |
| II. Produits de désinfections couramment utilisés en IAA | 49 |

| | |
|--|----|
| II.1. Hypochlorite de sodium | 50 |
| II.2. Peroxyde d'hydrogène..... | 50 |
| III. Mécanismes d'action des désinfectants..... | 51 |
| III.1. Mécanisme d'action des produits chlorés..... | 53 |
| III.2. Mécanisme d'action du peroxyde d'hydrogène..... | 53 |
| IV. Facteurs influençant l'efficacité des désinfectants | 53 |
| IV.1 Concentration et temps de contact | 53 |
| IV.2. Type de microorganisme..... | 54 |
| IV.3. Importance du nettoyage..... | 55 |
| V. Résistances bactériennes aux désinfectants | 55 |
| V.1. Définitions et généralités..... | 55 |
| V.2. Mécanismes de résistance bactérienne aux désinfectants..... | 57 |
| VI. Aperçu sur la réglementation..... | 60 |
| VI.1. Réglementation marocaine relative aux produits de désinfections..... | 60 |
| VI.2. Réglementation européenne relative aux produits de désinfections..... | 61 |
| VI.3. Autorisation sur les désinfectants mise en contact avec les aliments..... | 61 |
| VI.4. Méthode standardisée d'évaluation de la résistance aux désinfectants | 62 |
| CONCLUSION | 63 |

DEUXIEME PARTIE :

TECHNIQUES ET METHODES EXPERIMENTALES

| | |
|---|----|
| I. Souches bactériennes | 65 |
| I.1. Souches des <i>Escherichia coli</i> | 65 |
| I.2. Souches de salmonelles | 65 |
| II. Repiquage et conservation des souches | 66 |
| III. Surfaces solides | 67 |
| III.1. Verre | 67 |
| III.2. Acier inoxydable | 67 |
| IV. Produits de désinfection | 67 |
| V. Protocole expérimental de la caractérisation physico-chimique des micro-organismes et des supports | 70 |
| V.1. Principe de caractérisation des propriétés physico-chimiques par angle de contact..... | 70 |
| V.2. Caractérisation physico-chimique des surfaces des supports solides | 72 |
| V.3. Caractérisation physico-chimique des souches microbiennes | 72 |
| V.4. Calcul de l'énergie de surface | 72 |

| | |
|---|----|
| VI. Protocole expérimental de l'adhésion microbienne | 73 |
| VI.1. Préparation des suspensions bactériennes | 73 |
| VI.2. Test d'adhésion sur le verre | 73 |
| VII. Quantification d'adhésion des micro-organismes par le logiciel Matlab® | 74 |
| VIII. Etude de l'adhésion théorique : Calcul de l'énergie libre d'interaction ΔG_{Total} | 74 |
| IX. Protocoles expérimentaux de désinfection | 75 |
| IX.1. Désinfection par l'hypochlorite de sodium | 75 |
| IX.2. Désinfection par le peroxyde d'hydrogène | 76 |
| X. Mesures topographiques de la rugosité des supports | 76 |
| X.1. Microscopie à force atomique (AFM) | 76 |
| X.2. Rugosimètre..... | 78 |
| XI. Analyses statistiques | 78 |

TROISIEME PARTIE :

RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE I : CARACTERISATION DE LA SURFACE CELLULAIRE DES SOUCHES MICROBIENNES ET DE LA SURFACE DES SUBSTRATS

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION..... | 81 |
| I.Caractérisations physicochimiques des surfaces des souches <i>d'Escherichia coli</i> d'origine alimentaire..... | 82 |
| II. Caractérisations des souches de salmonelles d'origine alimentaire..... | 86 |
| III. Effet de la force ionique sur les propriétés physicochimiques des surfaces d' <i>Escherichia coli</i> et des salmonelles..... | 87 |
| III.1. Comparaison des propriétés physico-chimiques de surface des <i>Escherichia coli</i> à deux forces ioniques | 87 |
| III.2. Comparaison des propriétés physico-chimiques des salmonelles à deux forces ioniques..... | 89 |
| IV. Détermination des propriétés des surfaces du verre et des aciers inoxydables 304L, 304, 316L | 91 |
| IV.1. Caractérisation physicochimiques de la surface du verre et des aciers inoxydables (304L, 304, 316L)..... | 92 |
| IV.2. Etude de la microtopographie de la surface des aciers inoxydables par microscope à force atomique (AFM)..... | 93 |
| CONCLUSION | 95 |

CHAPITRE II : ETUDE DE L'ADHESION PREDICTIVE DES *ESCHERICHIA COLI* ET DES *SALMONELLES* SUR LE VERRE ET TROIS TYPES D'ACIER INOXYDABLE 304, 304L ET 316L.....

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION..... | 96 |
| I. Adhésion prédictive d' <i>Escherichia coli</i> sur le verre et l'acier inoxydable 304, 304L et 316L selon l'approche DLVO étendue. | 96 |

| | |
|---|-----|
| II. Adhésion prédictive des salmonelles sur les supports selon l'approche DLVO étendue..... | 98 |
| CONCLUSION..... | 100 |
| CHAPITRE III : ETUDE DE L'ADHESION EXPERIMENTALE DES MICRO-ORGANISMES EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT ET DE LA FORCE IONIQUE | |
| INTRODUCTION..... | 101 |
| I. Adhésion microbienne des <i>Escherichia coli</i> sur le verre | 102 |
| I.1. Etude d'adhésion des <i>Escherichia coli</i> à deux forces ioniques et à deux temps de contact | 102 |
| I.2. Relation entre les propriétés physico-chimiques et l'adhésion microbienne des <i>Escherichia coli</i> à deux forces ioniques..... | 107 |
| I.2.1. Etude de la corrélation entre les propriétés physico-chimiques et l'adhésion expérimentale des souches d' <i>Escherichia coli</i> | 107 |
| II. Adhésion microbienne des salmonelles sur le verre | 111 |
| II.1. Etude d'adhésion des salmonelles à deux forces ioniques et à deux temps de contact..... | 111 |
| II.3. Relation entre les propriétés physico-chimiques et l'adhésion microbienne des salmonelles à deux forces ioniques | 114 |
| CONCLUSION | 115 |
| CHAPITRE IV : ETUDE DE L'EFFICACITE DES PROTOCOLES DE DESINFECTION SUR L'ADHESION DES SOUCHES D'ESCHERICHIA COLI ET DES SALMONELLES | |
| INTRODUCTION..... | 118 |
| I. Effet des protocoles de désinfection par l'hypochlorite de sodium sur les bactéries adhérees | 119 |
| I.1. Effet du désinfectant hypochlorite de sodium sur les souches adhérees d' <i>E. coli</i> | 119 |
| I.2. Effet du désinfectant hypochlorite de sodium sur les souches adhérees des salmonelles..... | 125 |
| II. Effet des protocoles de désinfection par le peroxyde d'hydrogène sur les bactéries adhérees ... | 131 |
| II.1. Effet du désinfectant peroxyde d'hydrogène sur les cellules adhérees des <i>E. coli</i> | 131 |
| II.2. Effet du désinfectant peroxyde d'hydrogène sur les cellules adhérees des salmonelles..... | 136 |
| CONCLUSION | 146 |
| CHAPITRE V : ETUDE DE L'EFFET DES TRAITEMENTS DE DESINFECTION SUR LES PROPRIETES DES SURFACES DU VERRE ET DES ACIERS INOXYDABLES 304, 304L, 316L | |
| INTRODUCTION..... | 147 |
| I. Effet des désinfectants sur les propriétés physico-chimiques des surfaces du verre et d'acier inoxydable 304, 304L, 316L | 147 |
| I.1. Traitements des surfaces par l'hypochlorite de sodium..... | 147 |
| I.2. Traitements des surfaces par le peroxyde d'hydrogène..... | 154 |
| II. Effet des traitements sur la rugosité de surface du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L | 160 |
| II.1. Traitements des surfaces par l'hypochlorite de sodium..... | 160 |

| | |
|---|------------|
| II.2. Traitements des surfaces par le peroxyde d'hydrogène | 162 |
| CONCLUSION | 165 |
| CHAPITRE VI : ETUDE DE L'ADHESION MICROBIENNE DES <i>ESCHERICHIA COLI</i> ET DES SALMONELLES SUR LES SUPPORTS TRAITES PAR LES DESINFECTANTS : L'APPROCHE PREDICTIVE | 166 |
| INTRODUCTION..... | 166 |
| I.Etude du potentiel adhésif des <i>E. coli</i> sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par les désinfectants..... | 166 |
| I.1. Potentiel adhésif après désinfection par l'hypochlorite de sodium | 166 |
| I.2. Potentiel adhésif après désinfection par le peroxyde d'hydrogène | 169 |
| II. Etude du potentiel adhésif des salmonelles sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par les désinfectants | 173 |
| II.1. Potentiel adhésif après désinfection par l'hypochlorite de sodium..... | 173 |
| II.2. Potentiel adhésif après désinfection par le peroxyde d'hydrogène | 175 |
| CONCLUSION | 179 |
| CHAPITRE VII : EVALUATION DE L'EFFET DES TRAITEMENTS DE LA SURFACE DU VERRE PAR LES DESINFECTANTS SUR LA POUVOIR D'ADHERENCE DES <i>ESCHERICHIA COLI</i> ET SALMONELLE..... | 180 |
| INTRODUCTION..... | 180 |
| I.Etude de l'adhésion microbienne des <i>Escherichia coli</i> sur le verre traité par les désinfectants.... | 180 |
| I.1. Adhésion après traitement du verre par l'hypochlorite de sodium | 180 |
| I.2. Adhésion après traitement du verre par le peroxyde d'hydrogène | 183 |
| II. Adhésion microbienne des salmonelles sur le verre traité par les désinfectants | 186 |
| II.1. Adhésion après traitement du verre par l'hypochlorite de sodium..... | 186 |
| II.2. Adhésion après traitement du verre par le peroxyde d'hydrogène | 189 |
| III. Etude de la corrélation entre l'adhésion microbienne des <i>Escherichia coli</i> et des Salmonelles et les propriétés physicochimiques de la surface du verre modifiées par la désinfection..... | 192 |
| CONCLUSION | 196 |
| CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES | 198 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 203 |
| ANNEXES..... | 219 |

Dédicaces

A celle qui m'a donné sans rien en retour,
A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles,
Et ceux à qui je dois tant

A ma chère maman pour son amour infini et son support continu,
Je te dois tous mes succès, tous mes bonheurs et toutes mes joies.
Je suis très heureuse et fière de ta présence à mes côtés.
Et j'espère t'honorer par le titre du Docteur.

A Mon Mari, Mohamed
A mes adorables petites filles, Chaimaa et Israe
Je suis très chanceuse de vous avoir à mes côtés
Et je suis très reconnaissante pour votre support continu

A mes très chers sœur et frère, Nabila et Soufiane
A mes chers beau-frère et belle-sœur, Hakim et Fatim zahra
A mes adorables beaux-parents, mes chers Fatiha et Bouaazza
Merci pour votre soutien et vos encouragements

A toute ma famille,
A tous mes enseignants
A tous mes ami(e)s

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour
tout ce que vous avez fait pour moi

Que Dieu le tout puissant vous procure continuellement santé, bonheur et tranquillité

REMERCIEMENT

C'est autant de plaisir qu'un devoir de présenter tous ceux qui, chacun dans son domaine, m'ont aidé afin que je puisse mener à bien ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements les plus respectueux.

Ce travail a été réalisé sous la direction des Professeurs **HASSAN LATRACHE** et **Hafida ZAHIR** au sein du Laboratoire des Bioprocédés et Biointerfaces de la faculté des sciences et Techniques de Béni Mellal.

Je tiens à exprimer aux Professeurs **Hassan LATRACHE** et **Hafida ZAHIR**, mon directeur de thèse et ma co-encadrante de thèse, mes remerciements les plus sincères pour leurs humanités, leurs grandes implications dans ce projet. Leurs directions rigoureuses, leurs visions scientifiques, leurs judicieuses directives et leurs encouragements ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail de thèse.

Je remercie sincèrement Professeur **Mostafa ELLOUALI**, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour son dévouement exemplaire et son encadrement sans faille que pour ses recommandations et avis judicieux durant nos séances de travail. Merci pour votre soutien, vos conseils pertinents et vos encouragements tout au long de ces années.

J'adresse mes remerciements les plus sincères au Pr **Mustapha MABROUKI**, pour son aide dans la réalisation des analyses par l'AFM au sein de son laboratoire, ses conseils et ses encouragements. C'est également un réel et grand plaisir de travailler auprès de vous, de bénéficier de vos expériences et de vos soutiens et de partager nos discussions, aussi bien scientifiques que personnelles. Ma reconnaissance va également à Dr **Elmostafa MLIJI**, pour m'avoir isolé et fourni les souches microbiennes. Je remercie également Pr **Nourddine Kouider** pour son aide dans les mesures de rugosité. Je suis très reconnaissante pour vos aides et vos soutiens.

Nos profonds remerciements s'adressent également au **Centre National de la Recherche Scientifique et Technique (CNRST)** qui ont financé la réalisation de ce travail dans le cadre du programme national du développement de la recherche sectorielle lancé par le Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique (RS/2011/32). Nos remerciements aussi s'adressent aux partenaires du projet : **l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès et l'Institut Pasteur du Maroc.**

Je remercie sincèrement chers Professeurs **Jamaa BENGORAM, Soumia ELABED** et **Rachida MIMOUNI** d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail. Je suis très heureuse de bénéficier de leurs observations et je tiens à leurs exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt.

Je suis honorée que Professeur **Saad BENSOUDA**, partenaire de longue date de notre équipe, ait accepté d'évaluer mon travail de thèse. Aussi, je veux exprimer, ici, ma respectueuse gratitude au Professeur **Fatima HAMADI**, pour avoir bien voulu participer à ce jury et pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Un remerciement particulier à **Najat , Chorouk ZANANE, Hajar RIZKI, Btissam GUIRROU, Nora SALIM, Ahmed MAOUNI**. Que vous trouvez ici ma grande reconnaissance pour votre aide précieux et les meilleurs moments que vous m'avez fait vivre au laboratoire. Je vous souhaite plein de succès dans la vie.

A mes collègues du laboratoire bioprocédés et bio-interfaces « **Abdelwahed ASSAIDI, btissam MAYOUSSI, Safae TANKIOUINE, Hakim TAOUFIK, Hajar KOUBALI, Soukaina SOUFIANI, Ayoub et Rabha...** » témoignage de ma gratitude et ma reconnaissance pour votre soutien constant. J'adresse aussi mes profondes amitiés aux **doctorants et étudiants** que j'ai eu le plaisir de côtoyer au laboratoire et en dehors. Qu'ils trouvent ici la manifestation de ma gratitude.

A mes amies ; **Rachida AJAME, Fadwa GUIMIMI, Ilham ELAMRANI, Wissal BENMOUSSA, Joumala SIDI HIDA, Khadija ATFAOUI, Sanaa OUCHRIK, Houda ENNACIRI** pour leurs amours infinis. Que Dieu vous protège et vous procure joie et bonheur et notre amitié reste à jamais.

A la **22^{ème} promo** de la filière des industries agricoles et alimentaires de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat.

Mes sincères remerciements à toutes les personnes, ami(e)s, collègues, qui ont contribués de près ou de loin à la réussite de notre travail.

VALORISATION DES TRAVAUX DE THESE

∞ PRIX ET DISTINCTIONS

- Prix de **meilleure communication orale** au **Symposium sur les biofilms microbiens** : " Importance et applications ", Faculté des sciences et techniques de Fès ; 23 février 2019 avec la communication :

K. Elfazazi, H. Zahir, S. Tankiouine, C. Zanane, B. Mayoussi, M. Ellouali, F. Hamadi, H. Latrache. Investigation on the efficiency of sodium hypochlorite sanitizer against adhesion ability of *Salmonella Kentucky* strains isolated from food processing industries.

- Prix de **meilleure communication affichée** au **Congrès International des Sciences Pharmaceutiques** », Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, 25-26 Février 2016, avec la communication :

K. Elfazazi, S. Tankiouine, S. Lekchiri, C. Zanane, H. Rizki, H. Zahir, M. Mabrouki, M. Ellouali, H. Latrache. Etude de l'efficacité de certains protocoles de désinfection couramment utilisés en industries pharmaceutiques sur l'adhésion microbienne.

- Prix de **meilleure communication affichée** au **Congrès International des Sciences Pharmaceutiques** », Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, 16-17 Février 2018, avec la communication :

H. Rizki, H. Latrache, **K. Elfazazi**, A. Naboulssi, F. Kzaiber, H. Hanine. Influence of the hydrophobicity and surface roughness of fruits and raw vegetables in microbial adhesion and evaluation of the sesame oil protecting ability of these vegetables matrices.

∞ PUBLICATIONS INTERNATIONNALES

- **ELFAZAZI K.**, ZAHIR H., ZANANE C., MABROUKI M., ELLOUALI M., HAMADI F., LATRACHE H. (2018), Physicochemical properties modification of stainless steels 304l by using sodium hypochlorite in disinfection procedures and consequences on *Escherichia coli* adhesion potential. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, Volume 9, Issue 3, March-2018 p.956. ISSN 2229-5518
- **ELFAZAZI K.**, ZAHIR H., TANKIOUINE S., ZANANE C., S. ELLOUALI M., LATRACHE H. (2018). Microbial Adhesion of *Salmonella Muenster*, *Salmonella Kentucky*, *Salmonella Newport* and *Salmonella Kiel*: Effect of Ionic Strength on Physicochemical Surface Properties, *Annual Research & Review in Biology*, ISSN: 2347-565X, Vol.: 27, Issue.: 3, DOI : [10.9734/ARRB/2018/42502](https://doi.org/10.9734/ARRB/2018/42502).
- **ELFAZAZI K.**, ZAHIR H., MAYOUSSI B., ELLOUALI M., ZANANE C., MLIJI M., HAMADI F., LATRACHE H. The role of cell surfaces qualitative and quantitative hydrophobicities in microbial adhesion of twelve *Escherichia coli* serotypes from food origins. *Malaysian Journal of Microbiology (MJM)*. (In review)

- **ELFAZAZI K.**, ZAHIR H., ZANANE C., ELLOUALI M., HAMADI F, H. LATRACHE. Investigation on the influence of commercial sanitizers on surface properties of stainless steels commonly used in food processing industries and consequences on adhesion ability of *Salmonella Bredeney* and *Salmonella Infantis* strains. (In review)
- C. ZANANE, H. LATRACHE, **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, M. EL LOUALI. (2018). Isolation of actinomycetes from different soils of Beni Amir Morocco. *Journal of Materials and Environmental Science*. Volume 9, Issue 10, Page 2994-3000.
- CHOROUK Z., HAFIDA Z., LATRACHE H., DUPONNOIS R., FERHOUT H., **ELFAZAZI K.**, ELLOUALI M., (2018). Screening of actinomycetes isolated from the soils of the Beni Amir region of Morocco by the 16S sequencing of the rDNA gene *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 2363-2368 Volume 9, Issue 5.

❧ COMMUNICATIONS DANS DES CONFERENCES NATIONALE ET INTERNATIONNALES

❖ Communications orales :

1. **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, S. TANKIOUINE, C. ZANANE, B. MAYOUSSI, M. ELLOUALI, F. HAMADI, H. LATRACHE, Investigation on the efficiency of sodium hypochlorite sanitizer against adhesion ability of *Salmonella Kentucky* strains isolated from food processing industries. Symposium sur les biofilms microbiens : " Importance et applications ", Faculté des sciences et techniques de Fès ; 23 février 2019
2. S. TANKIOUINE, H. ZAHIR, **K. ELFAZAZI**, M. EL GOULLI, M. ELLOUALI, H. LATRACHE. Comparaison of *staphylococcus aureus* adhesion on glass treated with two types of UHT milk. 16-20 Mars 2019 ; Second Mediterranean Congress on Biotechnology, Hammamet, Tunisie.
3. C. ZANANE, H. ZAHIR, H. LATRACHE, **K. EL FAZAZI**, R. EL OTHMANY, I. MAYOUSSI, O. AIT LAHBIB, M. EL OUALI, Physicochemical characterization of the surface of actinomycetes isolated from soil of Beni Amir (Beni Mellal, Morocco) by two methods ; Symposium sur les biofilms microbiens : " Importance et applications ", Faculté des sciences et techniques de Fès ; 23 février 2019.
4. A. ELASSRI, H. KOUBALI, A. JAAFARI, **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, H. LATRACHE, M. ELLOUALI. Relation entre sensibilité/résistance aux antibiotiques et la capacité de former des biofilms. 16-17 Février 2018, « 3^{ème} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal.
5. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, H. ZAHIR, M. MABROUKI, M. ELLOUALI, H. LATRACHE. Comparison of physicochemical properties of stainless steels by the use of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide in disinfection procedures of food industries and consequences on *Escherichia Coli* adhesion potential, 13-15 Octobre 2017 International Conference On Food Science & Technology, Rome, Italy.
6. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, M. MABROUKI, M. ELLOUALI, H. ZAHIR, M. MLIJI, H. LATRACHE. Etude de l'impact de certains protocoles de désinfection sur les propriétés des

supports de l'acier inoxydable (304, 304L, 316L) couramment utilisés en agroalimentaires et leur effet sur l'adhésion microbienne. 13^{ème} Forum Biodétérioration des Matériaux, 29-30 Mars 2016, Toulouse, France.

7. S. TANKIOUINE, **K. ELFAZAZI**, A. ASSAIDI, H. ZAHIR, S. LEKCHIRI, M. MLIJI. Effet de la composition lipidique du lait sur l'adhésion de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 sur deux supports différents. 5^{ème} Colloque Bioadhésion, Biocontamination des Surfaces, 5-7 Mai 2015, FST Beni Mellal, Maroc.
8. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, S. LEKCHIRI, M. MABROUKI, M. ELLOUALI, H. ZAHIR, M. MLIJI, H. LATRACHE. Etude de l'impact de certains protocoles de désinfection sur les propriétés des supports de l'acier inoxydable couramment utilisés en industries agroalimentaires. 5^{ème} Colloque Bioadhésion, Biocontamination des Surfaces, 5-7 Mai 2015, FST Beni Mellal, Maroc.
9. GUIRROU, H. LATRACHE, **K. ELFAZAZI**, C. ZANANE, M. ELLOUALI. Etude de la cinétique d'adhésion de *staphylococcus aureus* ATCC25923 au verre en présence de différentes forces ioniques. 5^{ème} Colloque Bioadhésion, Biocontamination des Surfaces, 5-7 Mai 2015, FST Beni Mellal, Maroc.

❖ Communications Affichées :

1. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, H. ZAHIR, B. MAYOUSSI, M. ELLOUALI, H. LATRACHE. Microbiological stability of carob's drink (*ceratonia siliqua* L.) based on predictive modelling. 3-4 May 2018, 6th Food Safty Congress, Istanbul, Turkey.
2. S. TANKIOUINE, M. ELLOUALI, **K. ELFAZAZI**, M. Goulli, H. ZAHIR, H. LATRACHE. Adhesion of *staphylococcus aureus* on glass treated with UHT milk. 3-4 May 2018, 6th Food Safty Congress, Istanbul, Turkey.
3. H. RIZKI, H. LATRACHE, **K. ELFAZAZI**, A. NABOULSSI, F. KZAIBER, H. HANINE. Influence of the hydrophobicity and surface roughness of fruits and raw vegetables and evaluation of the sesame oil in protecting these vegetables matrices. 16-17 Février 2018, « 3^{ème} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal.
4. L. CHAFKI, **K. ELFAZAZI**, H. RIZKI, H. AYAD, A. HADDIOUI, M. BENBATI, M. JBILOU, M. ELHANSALI. Antioxydant and antibacterial potential of pomegranate Bark extrats and seed extrats (*Punicagranatum* L), 16-17 Février 2018, « 3^{ème} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal
5. MAYOUSSI, H. ZAHIR, M. ELLOUALI, R. OTHMANI, **K. ELFAZAZI**, L. ASKARNE, F. HAMADI, S. SOUFIANI, H. LATRACHE. Predictive adhesion of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* and *Geotichum candidum* on navel oranges. 22-25 Novembre 2017, Faculté des sciences et technique de Fès, Fès Maroc.
6. **K. ELFAZAZI**, S. SOUFIANI, B. MAYOUSSI, H. ZAHIR, H. LATRACHE (2017). Predictive adhesion of *Penicillium Digitatum* and *Penicillium Italicum* spores on wood packaging, 16-18 May 2017 « 2nd international balkan agriculture congress », Tekirdag, Turkey.

7. S. TANKIOUINE, **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, H. LATRACHE. 16-18 May 2017. Adhesion of *Staphylococcus aureus* on polystyrene treated with milk, 16-18 May 2017 « 2nd international balkan agriculture congress », Tekirdag, Turkey.
8. **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, S. TANKIOUINE, H. LATRACHE. Physicochemical properties modification of stainless steels 304l by the use of sodium hypochlorite in disinfection procedures of food industries and consequences on *Escherichia coli* adhesion potential, 16-18 May 2017 « 2nd international balkan agriculture congress », Tekirdag, Turkey.
9. H. RIZKI, **K. ELFAZAZI**, M. ELHARFI, A. NABOULSSI, F. KZAIBER, H. LATRACHE, C. ZANANE, H. HANINE, A new treatment of vegetables surfaces with sesame for the prevention of alteration against bacterias, 17-18 Février 2017, « 2^{ème} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal.
10. R. ELOTHMANI, H. ZAHIR, C. ZANANE, S. TANKIOUINE, **K. ELFAZAZI**, H. LATRACHE. Prevention of adhesion and biofilm formation by actinomycetes isolated from beni amir Moroccan saline soil. 17-18 Février 2017, « 2^{ème} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal.
11. **K. ELFAZAZI**, M. ELGHOZLANI, E.M. RAKIB, H. ZAHIR, H. LATRACHE. Etude de l'efficacité de l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène sur l'adhésion microbienne en présence des dérivés indazoliques, 17-18 Février 2017, « 2^{ème} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal
12. T. HAKIM, S. LEKCHIRI, **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, H. LATRACHE. Study of the adhesion phenomena of the agent of fire blight to the host *Malus* spp. (apple). 24-26 OCTOBER 2016, 3rd International congress on Microbial biotechnology for development « MICROBIOD 3 », Mohammedia, Maroc.
13. S. TANKIOUINE, **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, S. LEKCHIRI, M. ELLOUALI, M. MLIJI, H. LATRACHE. Adhesion of *Staphylococcus aureus* cultured in the UHT milk in polystyrene surface. 24-26 OCTOBER 2016, 3rd International congress on Microbial biotechnology for development « MICROBIOD 3 », Mohammedia, Maroc.
14. MAYOUSSI, H. ZAHIR, M. ELLOUALI, **K. ELFAZAZI**, F. HAMADI, S. SOUFIANI, T. HAKIM, H. LATRACHE. Predictive adhesion of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on oranges. 24-26 OCTOBER 2016, 3rd International congress on Microbial biotechnology for development « MICROBIOD 3 », Mohammedia, Maroc.
15. ZANANE, M. ELLOUALI, H. ZAHIR, **K. ELFAZAZI**, B. MALLOUKI, H. LATRACHE. Study of physicochemical properties of the surface of actinomycetes isolated from soil of Béni amir (Beni Mellal, Morocco). 24-26 OCTOBER 2016, 3rd International congress on Microbial biotechnology for development « MICROBIOD 3 », Mohammedia, Maroc.
16. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, C. ZANANE, H. ZAHIR, M. ELLOUALI, M. MLIJI, H. LATRACHE. Comparison of qualitative and quantitative hydrophobicity to explain the microbial adhesion behavior. 24-26 OCTOBER 2016, 3rd International congress on Microbial

biotechnology for development « MICROBIOD 3 », Mohammedia, Maroc.

17. H. RIZKI, H. LATRACHE, A. NABOULSSI, F. KZAIBER, S. LEKCHIRI, M. ELHARFI, C. ZANANE, **K. ELFAZAZI**, H. HANINE, L'étude de l'activité antibactérienne et antifongique du sésame (*Sesamum indicum*). 25-26 Février 2016, « 1^{ère} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal.
18. S. LEKCHIRI, M. TILAOUI, T. HAKIM, **K. ELFAZAZI**, H. AIT MOUSE, H. ZAHIR A. JAAFARI, M. ELLOUALI, H. LATRACHE, A. ZYAD. Activité antifongique, antioxydante et anti cancéreuse de quelques extraits d'origine naturelle. 25-26 Février 2016, « 1^{ère} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal.
19. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, S. LEKCHIRI, C. ZANANE, H. RIZKI, H. ZAHIR, M. MABROUKI, M. ELLOUALI, H. LATRACHE. Etude de l'efficacité de certains protocoles de désinfection couramment utilisés en industries pharmaceutiques sur l'adhésion microbienne. 25-26 Février 2016, « 1^{ère} Edition du Congrès International des Sciences Pharmaceutiques », Université Sultane Moulay Slimane, Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal, Béni-Mellal.
20. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, S. LEKCHIRI, M. ELLOUALI, H. ZAHIR, M. MLIJI, H. LATRACHE. Etude du rôle de la force ionique et du temps de contact sur l'adhésion d'*Escherichia coli* isolée des aliments. 13^{ème} Forum Biodétérioration des Matériaux, 29-30 Mars 2016, Toulouse, France.
21. H. RIZKI, H. LATRACHE, **K. ELFAZAZI**, M. ELHARFI, S. LEKCHIRI, H. HANINE. Etude de l'effet de l'huile de sésame sur l'adhésion microbienne d'*Escherichia coli* ATCC et *Escherichia coli* d'origine alimentaire. 5^{ème} Colloque Bioadhésion, Biocontamination des Surfaces, 5-7 Mai 2015, FST Beni Mellal, Maroc.
22. S. LEKCHIRI, **K. ELFAZAZI**, T. HAKIM, H. ZAHIR, M. ELLOUALI. Etude des interactions physiques entre *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis* et palmier dattier. 5^{ème} Colloque Bioadhésion, Biocontamination des Surfaces, 5-7 Mai 2015, FST Beni Mellal, Maroc.
23. S. TANKIOUINE, **K. ELFAZAZI**, H. ZAHIR, M. ELLOUALI, H. LATRACHE. Comparaison de l'adhésion expérimentale et théorique des souches de *Salmonelles* d'origine alimentaire. 5^{ème} Colloque Bioadhésion, Biocontamination des Surfaces, 5-7 Mai 2015, FST Beni Mellal, Maroc
24. **K. ELFAZAZI**, S. TANKIOUINE, B. MAYOUSSI, M. ELLOUALI, H. ZAHIR, M. MLIJI, H. LATRACHE. Etude de l'adhésion microbienne d'une dizaine de souche des *Escherichia coli* isolées des aliments. 5^{ème} Colloque Bioadhésion, Biocontamination des Surfaces, 5-7 Mai 2015, FST Beni Mellal, Maroc.
25. **K. ELFAZAZI**, H. LATRACHE, M. MABROUKI, H. ZAHIR, M. ELLOUALI. Etude et validation de certains protocoles de désinfection dans les industries agroalimentaires. Deuxième édition des Journées Doctoriales (JDoc'15). 26-28 Mars 2015, Béni Mellal, Maroc.
26. **K. ELFAZAZI**, H. LATRACHE, I. MAYOUSSI, M. TIMINOUNI, M. MABROUKI. Caractérisation physico-chimique et antigénique de la surface des *Escherichia coli* isolées des aliments et leurs adhésions prédictives. Symposium Franco-marocain BIOADHESION-BIOFILM, 28 Mai 2013, Fes, Maroc,

RESUME

Dans l'industrie agroalimentaire, la maîtrise de l'hygiène de surface demeure une préoccupation constante. En effet, les procédures de désinfection doivent garantir l'hygiène dans les chaînes de transformation en éliminant complètement les bactéries des surfaces afin d'éviter tout risque de contamination. Les objectifs de cette étude sont d'une part, contribuer à la compréhension des phénomènes interfaciales, régissant la biocontamination des matériaux utilisés en agroalimentaires, et mettre le point sur l'efficacité des désinfectants sur les bactéries pathogènes présente en IAA à l'état adhérente et d'autre part, évaluer l'impact de l'utilisation de ces produits sur les propriétés de surfaces des matériaux et analyser les conséquences éventuelles sur l'adhésion microbienne.

Dans la première partie, l'étude des caractéristiques des surfaces cellulaires de 12 souches d'*E. coli* et de 5 souches de salmonelles, isolées d'un environnement industriel, et celles verre et des aciers inoxydables (304, 304L, 316L), sous différentes conditions environnantes, nous a permis d'évaluer les conditions régissant la bio-adhésion sur ces supports. En effet, les souches d'*E. coli* ont une forte tendance à adhérer à une forte force ionique, alors que les salmonelles ont une forte tendance à adhérer à une faible force ionique. Cette adhésion est accentuée en augmentant le temps de contact de 3h à 18h. Le pourcentage des cellules adhérees des *E. coli* à caractère hydrophobe corrèle fortement avec les valeurs des hydrophobicités, des composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et des caractères donneurs d'électrons (γ) à (3h, $10^{-1}M$). L'adhésion des *S. kentucky* et *S. newport* sur le verre à faible force ionique semble augmenter avec le caractère hydrophobe et celui donneur d'électrons (γ) faible.

Dans la deuxième partie, nous avons mis le point sur l'efficacité des désinfectants, à base d'hypochlorite de sodium et de peroxyde d'hydrogène, sur l'état adhérent de deux souches d'*E. coli* et deux de salmonelle, ayant montré un pouvoirs d'adhérence très important. Différentes concentrations de désinfectants et de temps d'applications sont appliquées. D'une façon générale, les protocoles de désinfection ($12^{\circ}Chl$; 15min) et ($14^{\circ}Chl$; 15min) de l'hypochlorite de sodium élimine fortement les cellules adhérees (soit une réduction jusqu'à 98%). A partir de 5mn d'application, le peroxyde d'hydrogène à 3% réduit fortement le pourcentage des cellules adhérees de toutes les souches étudiées (soit une réduction jusqu'à 99%). En outre, le peroxyde d'hydrogène est plus efficace sur les cellules adhérees comparativement à l'hypochlorite de sodium.

Par ailleurs, nous avons mis en évidence l'impact des traitements des désinfectants sur les propriétés physico-chimiques et la rugosité de surface du verre et des trois aciers inoxydables. Les mesures de la rugosité des supports par l'AFM ont montré qu'aucun changement significatif de la valeur de Ra n'est observé. Par contre, les traitements par les deux désinfectants affectent, très significativement, l'hydrophobicité des surfaces (O_w) et changent largement les caractères donneurs /accepteurs d'électron. Ceci engendrait des changements dans l'aptitude d'adhésion microbienne. En effet, l'adhésion sur le verre et l'acier 304L était défavorable thermodynamiquement, alors que le traitement à moyenne concentration d'hypochlorite de sodium ($10^{\circ}Chl$, $12^{\circ}Chl$) favoriserait généralement l'adhésion des *E. coli*. Cependant, le traitement préalable des aciers 304 et 316L par le peroxyde d'hydrogène défavoriserait, généralement, l'adhésion bactérienne. Nous avons adopté le concept de statut hygiénique afin de classer les supports selon leurs aptitudes à l'adhésion microbienne après modifications des surfaces. Ainsi, avant traitement, le verre serait le support le plus hygiénique. Après traitement par l'hypochlorite de sodium, l'acier 316L deviendrait le support le plus hygiénique,

cependant, le traitement par le peroxyde d'hydrogène rendrait l'acier 304 le support le plus hygiénique.

Nous avons vérifié expérimentalement l'effet des modifications des propriétés physicochimiques du verre par les désinfectants sur l'adhésion microbienne. En effet, le traitement préalable par les deux désinfectants, engendre une réduction du pourcentage d'adhésion jusqu'à 80% à 90% de la valeur initiale. De plus, l'étude de la régression a révélé que l'adhésion des souches étudiées sur le verre traité dépend des souches bactériennes et des propriétés physicochimiques de surfaces du verre traité. En effet, l'augmentation du pourcentage des cellules adhérees des souches est fortement proportionnelle à l'hydrophobicité qualitative (Ow) de la surface traitée par le peroxyde d'hydrogène.

Mots-Clés : Hygiène des surfaces – adhésion microbienne – *Escherichia coli* – *Salmonelles* – verre - acier inoxydable (304 ; 304L ; 316L) – hypochlorite de sodium – peroxyde d'hydrogène.

ABSTRACT

In food industries, disinfection procedures must ensure hygiene in the food processing chains by completely eliminating bacteria from the surfaces in order to avoid any risk of contamination. The objectives of this study are, on the one hand, to contribute to the understanding of the interfacial phenomena, governing the biocontamination of materials used in the food industries, and to highlight the effectiveness of disinfectants on pathogenic strains adhered to surfaces, and on the other hand, to evaluate the impact of using disinfecting agents on the surface properties of the materials in contact with the food and subsequently, to analyze the consequences on the microbial adhesion .

The study of surface characteristics of 12 strains of *E. coli* and 5 of salmonella, isolated from an industrial environment, and the characterization of glass and stainless steels (304, 304L, 316L) surfaces, under various environmental conditions, allowed us to assess the conditions governing bio-adhesion. Indeed, *E. coli* strains have a strong tendency to adhere to strong ionic strength, whereas salmonella strains have a strong tendency to adhere to low ionic strength. This phenomenon is accentuated by increasing contact time from 3h to 18h. The percentage of adhered cells of hydrophobic *E. coli* correlates strongly with hydrophobicity, Van der Waals components (γ^{LW}) and electron donor characters (γ^-) at (3h, $10^{-1}M$). The hydrophobic character and low values of the electron donor (γ^-) character of *S. kentucky* and *S. newport* strongly increase their adhesion to low ionic glass.

The effectiveness of disinfectants (sodium hypochlorite and hydrogen peroxide) on microbial adhered strains to glass surfaces were studied. Two strains of *E. coli* and two strains of salmonella, selected for their strong adhesion to glass, were the subject of this study. Different concentrations of disinfectants and application times are applied. Thus, in general, the disinfection protocols (12 °Chl; 15min) and (14 °Chl; 15min) of sodium hypochlorite strongly eliminate the adhered cells (reduction up to 98%). In addition, the hydrogen peroxide (3%) greatly reduces the percentage of adhered cells of all the strains studied from 5 min of application (reduction up to 99%). In addition, hydrogen peroxide is more effective on adhered cells compared to sodium hypochlorite.

The impact of disinfectant treatments on the physicochemical properties and surface roughness of glass and the stainless steels were evaluated. Measurements of roughness by AFM showed that no significant change in the Ra value was observed. However, the treatments by the disinfectants affect very significantly surface hydrophobicity (O_w) and largely change the electron donor / acceptor values. These changes caused modifications in microbial adhesion. In fact, the adhesion to glass and 304L steel surfaces was thermodynamically unfavorable, whereas the medium concentration treatment of sodium hypochlorite (10 ° Chl, 12 ° Chl) would generally promote the adhesion of *E. coli*. However, treatments of 304 and 316L steels with hydrogen peroxide would, in general, disadvantage bacterial adhesion. We adopted the concept of hygienic status in order to classify the supports according to their microbial adhesion ability after disinfection treatments. Thus, before treatment, glass would be the most hygienic support. After treatment with sodium hypochlorite, 316L steel would become the most hygienic support, however, treatment with hydrogen peroxide would make 304 steel the most hygienic.

The effect of changes in the physicochemical properties of glass surface by disinfectants on the adhesion of two *E. coli* strains and two salmonellas were experimentally verified. Indeed, treatments with all disinfectants, causes a reduction in the percentage of adhesion of *E. coli* and salmonella up to 80% to 90%. Moreover, the study of the regression revealed that the microbial adhesion on the treated glass depends, not only on the bacterial strains, but also on the physicochemical properties of the surfaces of the treated glass. Thus, the increase in all adhered strains studied is highly proportional to the hydrophobicity (O_w) of treated surface with hydrogen peroxide.

Keywords: Surface hygiene - microbial adhesion - *Escherichia coli* - *Salmonella* - glass - stainless steel (304; 304L; 316L) - sodium hypochlorite - hydrogen peroxide.

ملخص

في الصناعات الغذائية، يظل التمكن من إتقان نظافة أسطح المعدات والمرافق مصدر قلق دائم. حيث ان إجراءات التطهير يجب أن تضمن صحة الأسطح عن طريق القضاء التام على البكتيريا لتجنب أي خطر للتلوث. في هذا السياق، أهداف هذه الدراسة هي المساهمة في فهم الظواهر البيئية، التي تحكم في التكاثر البيولوجي للمكروبات على أسطح الآليات المستعملة عادة في الصناعات الغذائية، وتسليط الضوء على فعالية المطهرات على البكتيريا الملصقة المسببة للأمراض المنقولة عن طريق الأغذية وكذا، تقييم تأثير استخدام هذه المطهرات على الخصائص السطحية للمواد المستخدمة في الصناعات الغذائية وبعد ذلك، تحليل النتائج المحتملة على التصاق الميكروبات.

دراسة خصائص السطوح 12 بكتيريا قولونية (إ. كولاي) و 5 بكتيريا السالمونيلا معزولة من بيئة صناعية، وخصائص الزجاج والفولاذ المقاوم للصدأ (304، L304، L316)، تحت ظروف بيئية مختلفة، سمح لنا بتقييم شروط الحيوية لالتصاق على هذه الوسائط. أظهرت النتائج أن لدى بكتيريا (إ. كولاي) ميل قوي للالتصاق في وسط ذي قوة أيونية عالية ($10^{-1}M$)، في حين أن السالمونيلا لديهم ميل قوي للالتصاق في وسط ذي قوة أيونية منخفضة ($10^{-3}M$). تزيد قدرة الالتصاق من خلال زيادة وقت الاتصال من 3 ساعات إلى 18 ساعة. ترتبط القدرة اللاصقة ل (إ. كولاي) الكاراهة للماء بقيمة الكره للماء، مكونات فان دير فال (γ^{LW}) و قدرة منح الإلكترون (γ^-) في ($10^{-1}M$ ، 3h). يبدو أن الطابع النافر من الماء والطابع المانح للإلكترون الضعيف (γ^-) لـ S. kentucky و S. newport يزيدان من تمسكهم بزجاج في وسط ذي قوة أيونية منخفضة.

في الجزء الثاني، قمنا بتقييم فعالية المطهرات، هيبوكلوريت الصوديوم وبيروكسيد الهيدروجين، على الحالة الملصقة لاثنتين من بكتيريا إ. كولاي واثنتين من بكتيريا السالمونيلا التي أظهرت قوة التصاق كبيرة. تم تطبيق تركيزات مختلفة من المطهرات وأوقات التطبيق. هكذا، وبشكل عام، فإن بروتوكولات التطهير (12 درجة الكلورومتر؛ 15 دقيقة) و (14 درجة الكلورومتر؛ 15 دقيقة) من هيبوكلوريت الصوديوم تقضي بشدة على الخلايا الملصقة التي تمت دراستها (بتخفيض يصل إلى 98%). بالإضافة إلى ذلك، يقلل بيروكسيد الهيدروجين 3% بشكل كبير من نسبة الخلايا الملصقة التي تمت دراستها من 5 دقائق من التطبيق (تخفيض يصل إلى 99%). بالإضافة إلى ذلك، فإن بيروكسيد الهيدروجين أكثر فعالية على الخلايا الملصقة مقارنة بهيبوكلوريت الصوديوم.

بالإضافة إلى ذلك، فقد أبرزنا تأثير المعقمات على الخواص الفيزيائية والكيميائية وخشونة سطح الزجاج والفولاذ المقاوم للصدأ. أظهرت قياسات الخشونة بواسطة مجهر القوة الذرية (AFM) أنه لم يلاحظ أي تغيير كبير في قيمة Ra لجميع المواد. من ناحية أخرى، تؤثر العلاجات التي قام بها المطهران بشكل كبير للغاية على القدرة الكاراهة المائية للأسطح (Ow) وتغير إلى حد كبير قيم الخصائص المانحة / المتقبل للإلكترون. مما تسبب في تغيير قدرة التصاق الميكروبية. وبالتالي، فإن معالجة الأسطح الزجاجية والفولاذ L304 بتركيز متوسط من هيبوكلوريت الصوديوم (10 درجة الكلورومتر، 12 درجة الكلورومتر) من شأنه أن يعزز عمومًا التصاق بكتيريا إ. كولاي. ومع ذلك، فإن معالجة الفولاذ المقاوم للصدأ L316 و 304 مع بيروكسيد الهيدروجين من شأنه أن يجعل التصاق البكتيريا مستحيلًا بشكل عام. بالإضافة إلى ذلك، اعتمدنا مفهوم الحالة الصحية لتصنيف الزجاج والفولاذ المقاوم للصدأ وفقًا لخصائصها اللاصقة الميكروبية بعد تعديلات السطح بواسطة المطهرات. وهكذا، قبل العلاج، كان الزجاج هو أكثر المواد الصحية. بعد المعالجة باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم، سيصبح الفولاذ L316 أكثر المواد الصحية، في حين أن المعالجة ببيروكسيد الهيدروجين من شأنها أن تجعل 304 الصلب من أكثر المواد الصحية.

بالإضافة إلى ذلك، تحققنا تجريبيًا من تأثير التغيرات في الخواص الفيزيائية والكيميائية للسطح الزجاجي بواسطة المطهرات على التصاق بكتيريا إ. كولاي والسالمونيلا. إن العلاج الأولي بالمطهرات يؤدي إلى انخفاض في نسبة التصاق تصل إلى 80% إلى 90% من القيمة الأولية. وبالتالي، تم تحسين الحالة الصحية للزجاج بالنسبة لإمكانات اللصق بشكل كبير. بالإضافة إلى ذلك، كشفت الدراسة الإحصائية أن التصاق البكتيريا المدروسة بالزجاج المعالج بالمطهرات يعتمد، ليس فقط على السلالات البكتيرية، ولكن أيضًا على الخواص الفيزيائية والكيميائية لأسطح الزجاج المعالج. إن الزيادة في النسبة المئوية للخلايا الملصقة لجميع البكتيريا التي تمت دراستها تتناسب إلى حد كبير مع معيار الكره المائي للسطح المعالج ببيروكسيد الهيدروجين.

الكلمات المفتاحية: النظافة السطحية - التصاق الميكروبات - بكتيريا إ. كولاي - بكتيريا السالمونيلا - الزجاج - الفولاذ المقاوم للصدأ (304 ؛ L304 ؛ L316) - هيبوكلوريت الصوديوم - بيروكسيد الهيدروجين.

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|-----|
| Tableau 1 : Exemples de traitements de surface d'acier inoxydable et la topographie de surface correspondante (EHEDG, 2004)..... | 15 |
| Tableau 2 : Paramètres importants liés aux surfaces, à l'environnement et aux cellules bactériennes influençant la formation et le développement du biofilm (Donlan and Costerton, 2002))..... | 23 |
| Tableau 3 : Spécifications AISI, NF et EN des aciers inoxydables fréquemment utilisés en industrie agro-alimentaire (EHEDG, 2004)..... | 44 |
| Tableau 4 : Synthèse du mécanisme de l'action antibactérienne d'antiseptiques et de désinfectants (Allion, 2004)..... | 56 |
| Tableau 5 : Souches des <i>Escherichia coli</i> , leurs origines et leurs sérotypes | 65 |
| Tableau 6 : Sérovars des salmonelles | 66 |
| Tableau 7 : Modes d'utilisations de l'hypochlorite de sodium et peroxyde d'hydrogène dans une fromagerie..... | 68 |
| Tableau 8 : Produits de désinfection et leurs modes d'emploi | 69 |
| Tableau 9 : Conditions de l'utilisation des désinfectants | 70 |
| Tableau 10 : Composantes Van der waals, accepteur d'électrons et donneur d'électrons de l'énergie libre des trois liquides utilisés dans la méthode des angles de contacts (Van Oss, 1995)..... | 71 |
| Tableau 11 : Caractérisation physicochimique des surfaces des douze <i>Escherichia coli</i> par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants..... | 82 |
| Tableau 12 : Caractérisation physicochimique des surfaces des cinq souches de <i>salmonelles</i> par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants..... | 86 |
| Tableau 13 : Propriétés physicochimiques des surfaces du verre, de l'acier inoxydable 304L, de l'acier inoxydable 304 et de l'acier inoxydable 316L | 92 |
| Tableau 14 : Energies libres d'adhésion [ΔG^{Total} (mJm ⁻²)] des souches d' <i>Escherichia coli</i> sur le verre et les aciers inoxydables 304,304L et 316L..... | 97 |
| Tableau 15 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm ⁻²) des salmonelles sur le verre et les aciers inoxydables (304, 304L, 316L)..... | 98 |
| Tableau 16 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérees des souches d' <i>Escherichia coli</i> sur le verre à deux forces ioniques (10 ⁻¹ M et 10 ⁻³ M) et à deux temps de contact (3h et 18h)..... | 102 |
| Tableau 17 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Ow, ΔG_{Iwi}), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à 10 ⁻¹ M (KNO ₃) après 3hrs et 18hrs des souches des <i>Escherichia coli</i> (EI1, 38, 64, 19, EM3) à caractère hydrophobe..... | 108 |
| Tableau 18 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Ow, ΔG_{Iwi}), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à 10 ⁻¹ M (KNO ₃) après 3hrs et 18hrs des souches des <i>Escherichia coli</i> (13, EI3, EI4, 76, EI2, 65) à caractère hydrophile..... | 109 |
| Tableau 19 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Ow, ΔG_{Iwi}), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à 10 ⁻³ M (KNO ₃) après 3hrs et 18hrs des souches des <i>Escherichia coli</i> (EI1, 38, 64, 19, EM3) à caractère hydrophobe..... | 110 |
| Tableau 20 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Ow, ΔG_{Iwi}), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à 10 ⁻³ M (KNO ₃) après 3hrs et 18hrs des souches des <i>Escherichia coli</i> (EI1, 38, 64, 19, EM3) à caractère hydrophile | 110 |

| | |
|---|-----|
| Tableau 21 : Pourcentage des cellules d' <i>E. coli</i> (EM3) et (EM4) qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) | 122 |
| Tableau 22 : Analyse de la régression entre le pourcentage des cellules d' <i>E. coli</i> (EM3 ; EM4) qui restent adhérentes et les concentrations d'hypochlorite de sodium (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) par rapport à chaque temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) | 124 |
| Tableau 23 : Pourcentage des cellules de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) | 128 |
| Tableau 24 : Analyse de la régression entre le pourcentage des cellules de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> qui restent adhérentes et les concentrations d'hypochlorite de sodium (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) par rapport à chaque temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) | 130 |
| Tableau 25 : Pourcentage des cellules de <i>E. coli</i> EM3 et EM4 qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations (0,75% ; 1,5% ; 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min)..... | 134 |
| Tableau 26 : Pourcentage des cellules de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min). | 139 |
| Tableau 27 : Critères physicochimiques des surface du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par l'hypochlorite de sodium à 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl..... | 224 |
| Tableau 28 : Tableau récapitulatif de la variation des propriétés physicochimiques (hydrophobicité qualitative (Ow) ; composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; composantes donneurs d'électrons (γ^-)) suite aux traitements par l'hypochlorite de sodium | 153 |
| Tableau 29 : Critères physicochimiques des surface du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L traitées par le peroxyde d'hydrogène à 0,75% ; 1,5% et 3%.. Erreur ! Le signet n'est pas défini. | |
| Tableau 30 : Tableau récapitulatif de la variation des propriétés physicochimiques (hydrophobicité qualitative (Ow) ; composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; composantes donneurs d'électrons (γ^-)) suite aux traitements par le peroxyde d'hydrogène des différents supports. | 158 |
| Tableau 31 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm^{-2}) des <i>E. coli</i> sur le verre (A) , l'acier 304 (B), l'acier 304L (C) et l'acier 316L (D) traités par l'hypochlorite de sodium. | 167 |
| Tableau 32 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm^{-2}) des <i>E. coli</i> sur le verre (A) , l'acier 304L (B), l'acier 304 (C) et l'acier 316L (D) traités par le peroxyde d'hydrogène | 170 |
| Tableau 33 : Pourcentage des cas de traitements favorisant l'adhésion microbienne des <i>E. coli</i> par rapport au total des cas étudiés | 173 |
| Tableau 34 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm^{-2}) des Salmonelles sur le verre (A) , l'acier 304L (B), l'acier 304 (C) et l'acier 316L (D) traités par l'hypochlorite de sodium | 174 |
| Tableau 35 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm^{-2}) des salmonelles sur le verre (A) , l'acier 304L (B), l'acier 304 (C) et l'acier 316L (D) traités par le peroxyde d'hydrogène..... | 175 |
| Tableau 36 : Pourcentage des cas de traitements favorisant l'adhésion microbienne des salmonelles par rapport au total des cas étudiés | 177 |
| Tableau 37 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des <i>E. coli</i> EM3 et EM4 sur le verre, après 15min d'application de différentes concentrations de l'hypochlorite de sodium à (0° ; 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl)..... | 182 |
| Tableau 38 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des souches d' <i>E. coli</i> EM3 et EM4 sur le verre après 15min d'application de différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%)..... | 185 |

| | |
|--|-----|
| Tableau 39 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérees des souches <i>de S. newport</i> and <i>S. kentucky</i> au verre après 15min d'application de différentes concentrations de l'hypochlorite de sodium à (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ;16° et 18° Chl. | 188 |
| Tableau 40 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérees des souches <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> sur le verre , traité pendant 15min d'application par le peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%)..... | 191 |
| Tableau 41 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités qualitative et quantitative de surface (Ow, ΔG _{iw}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ ⁺ , γ ⁻) et le pourcentage des cellules adhérees d' <i>E. coli</i> et des salmonelles à la surface du verre traité par l'hypochlorite de sodium..... | 193 |
| Tableau 42 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités qualitative et quantitative de surface (Ow, ΔG _{iw}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ ⁺ , γ ⁻) et le pourcentage des cellules adhérees d' <i>E. coli</i> et des salmonelles à la surface du verre traité par le peroxyde d'hydrogène | 194 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|-----|
| Figure 1 : Évolution du nombre de publications par an dans lesquelles les mots « biofilm - désinfection » apparaît dans le titre, le résumé ou en mot clef (source Pubmed)..... | 10 |
| Figure 2 : Processus régissant la formation de biofilm (Bryers et Ratner, 2004)..... | 22 |
| Figure 3 : Schéma descriptif des interactions pouvant s'établir entre deux corps et distances pour lesquelles ces interactions sont significatives..... | 27 |
| Figure 4 : Adhésion d'un microorganisme : interaction bactérie-surface support en fonction de leur distance de séparation (Fletcher, 1996). | 28 |
| Figure 5 : Double couche électrique au voisinage d'une surface chargée..... | 29 |
| Figure 6 : Interactions stériques dues à la présence de chaînes de polymères adsorbées sur deux particules. (a) répulsion : la densité surfacique est élevée, la répulsion stérique est dominante. (b) attraction : la densité surfacique des polymères adsorbés est faible et les chaînes sont suffisamment longues pour s'adsorber simultanément sur plusieurs surfaces, générant ainsi une attraction par pontage..... | 32 |
| Figure 7 : Représentation schématique des énergies interfaciales mises en jeu lors de l'adhésion d'un microorganisme (M) en suspension dans un liquide (L) à un support (S). (a) pas d'adhésion (b) adhésion. | 35 |
| Figure 8 : Sites d'action des molécules antiseptiques et désinfectantes selon les micro-organismes, d'après Cremieux and Freney (1995). | 52 |
| Figure 9 : Activité d'un composé halogéné sur <i>Candida albicans</i> d'après Bessems (1998) | 54 |
| Figure 10 : Activité d'un composé halogéné sur différents microorganismes d'après Bessems (1998) | 54 |
| Figure 11 : Essai en suspension pour l'évaluation de l'efficacité bactéricide d'un produit selon la norme AFNOR NFT 72-300..... | 63 |
| Figure 12 : Supports des aciers inoxydables (316L, 304L, 304) utilisés dans l'étude expérimentale.. | 67 |
| Figure 13 : Energies intervenant dans la mesure de l'angle de contact..... | 70 |
| Figure 14 : Appareil d'angle de contact..... | 72 |
| Figure 15 : Ra Ecart moyen arithmétique du profil..... | 77 |
| Figure 16 : Appareil de l'AFM..... | 78 |
| Figure 17 : Comparaison des hydrophobicités (O_w) , composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) des <i>Escherichia coli</i> à deux forces ioniques (0,001M ; 0,1M) | 88 |
| Figure 18 : Caractérisation physicochimique des surfaces des cinq Salmonelles par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants à deux forces ioniques (0,1M – 0,001M) | 90 |
| Figure 19 : Observations des aciers inoxydables (304, 304L et 316L) par microscope à force atomique (AFM). Toutes les images sont à 50x 50 μm | 93 |
| Figure 20 : Rugosité arithmétique moyenne des aciers inoxydables (304, 304L, 316L) mesurée par AFM..... | 94 |
| Figure 21 : Observation microscopique des cellules des <i>Escherichia coli</i> adhérees sur le verre (Gx400) à deux forces ioniques (10^{-1}M , 10^{-3}M) et à deux temps de contact (3h, 18h). | 104 |
| Figure 22 : Comparaison des pourcentages de la surface occupée par les cellules adhérees des souches d' <i>Escherichia coli</i> à deux forces ioniques (10^{-1}M - 10^{-3}M) sur le verre..... | 105 |
| Figure 23 : Comparaison des pourcentages de la surface occupée par les cellules adhérees des souches d' <i>E. coli</i> à deux temps de contact (3h et 18h) sur le support du verre..... | 106 |
| Figure 24 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérees des souches (<i>S. muenster</i> , <i>S. newport</i> , <i>S. kentucky</i> , <i>S. infantis</i> , <i>S. mbandaka</i>) à deux forces ioniques (10^{-1}M , 10^{-3}M) et à deux temps de contact (3h ; 18h). | 111 |

| | |
|---|-----|
| Figure 25 : Observation microscopiques des cellules des salmonelles <i>S. muenster</i> , <i>S. newport</i> , <i>S. kentucky</i> , <i>S. infantis</i> , <i>S. mbandaka</i> adhérées sur le verre (Gx400) à deux forces ioniques | 112 |
| Figure 26 : Observations microscopiques des cellules d' <i>E. coli</i> (EM3) qui restent adhérées au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400)..... | 120 |
| Figure 27 : Observations microscopiques des cellules d' <i>E. coli</i> (EM4) qui restent adhérées au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400)..... | 121 |
| Figure 28 : Variation du pourcentage des cellules d' <i>E. coli</i> (EM3) et (EM4) qui restent adhérées au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min)..... | 123 |
| Figure 29 : Observations microscopiques des cellules de <i>S. newport</i> qui restent adhérées au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) de l'hypochlorite de sodium et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400) | 126 |
| Figure 30 : Observations microscopiques des cellules de <i>S. kentucky</i> qui restent adhérées au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400)..... | 127 |
| Figure 31 : Variation du pourcentage des cellules adhérées de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> qui restent adhérées au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium au verre aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) | 129 |
| Figure 32 : Observations microscopiques des cellules de <i>E. coli</i> (EM3) qui restent adhérées au verre en fonction des concentrations du peroxyde d'hydrogène appliquées (0,75% ; 1,5% ; 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400) | 132 |
| Figure 33 : Observations microscopiques des cellules de <i>E. coli</i> (EM4) qui restent adhérées au verre en fonction des concentrations du peroxyde d'hydrogène appliquées (0,75% ; 1,5% et 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400)..... | 133 |
| Figure 34 : Variation du pourcentage des cellules d' <i>E. coli</i> (EM3 et EM4) qui restent adhérées au verre avant et après traitement à différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène (0,75% ; 1,5% et 3%) et aux temps d'application (3min, 5min, 10min et 15min)..... | 135 |
| Figure 35 : Observations microscopiques des cellules adhérées de <i>S. newport</i> au verre en fonction des concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) du peroxyde d'hydrogène et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400) | 137 |
| Figure 36 : Observations microscopiques des cellules de <i>S. kentucky</i> qui restent adhérées au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400)..... | 138 |
| Figure 37 : Variation du pourcentage des cellules adhérées de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> qui restent adhérées au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations du désinfectant de peroxyde d'hydrogène et aux temps d'application variables..... | 140 |
| Figure 38 : Exemple de résultats du test de confirmation de la survie des bactéries adhérées après désinfection | 141 |
| Figure 39 : Critères physicochimiques de la surface du verre avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité qualitative (Ow) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-). | 148 |
| Figure 40 : Critères physicochimiques de la surface d'acier inoxydable 304L avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité qualitative (Ow) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-)...... | 149 |

| | |
|--|-----|
| Figure 41 : Critères physicochimiques de la surface d'acier inoxydable 304 avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité qualitative (Ow) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-)..... | 150 |
| Figure 42 : Critères physicochimiques de la surface d'acier inoxydable 316L avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité qualitative (Ow) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-)..... | 151 |
| Figure 43 : Critères physicochimiques du verre avant et après traitement par différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène. A : Hydrophobicité qualitative (Ow) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-). | 155 |
| Figure 44 : Critères physicochimiques des aciers inoxydables 304, 304L and 316L avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%). | 156 |
| Figure 45 : Variation de la rugosité du verre après traitement avec différentes concentrations d'hypochlorite de sodium | 160 |
| Figure 46 : Observation par microscopie à force atomique des aciers inoxydables (304, 304L et 316L) après traitements à trois concentrations d'hypochlorite de sodium (10 °, 12 ° et 14 ° Chl). Toutes les images sont à 50x 50 μm | 161 |
| Figure 47 : Variation de la rugosité des supports en acier inoxydable (304, 304L et 316L) après traitement avec différentes concentrations d'hypochlorite de sodium | 161 |
| Figure 48 : variation de la rugosité du verre après traitement avec différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène | 162 |
| Figure 49 : Observation par microscopie à force atomique des aciers inoxydables (304,304L et 316L) après traitements à trois concentrations du peroxyde d'hydrogène (0,75% ; 1,5% ; 3%). Toutes les images sont à 50x 50 μm | 163 |
| Figure 50 : Variation de la rugosité des supports (Ra) en acier inoxydable (304, 304L, 316L) après traitement avec différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène (0,75% ; 1,5% et 3%)..... | 163 |
| Figure 51 : Observations au microscope optique des <i>E. coli</i> EM3 et EM4 adhérees au verre traité par l'hypochlorite de sodium à (0° ; 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl) après 15 mn d'application. Grossissement (Gx400)..... | 181 |
| Figure 52 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérees d' <i>E. coli</i> EM3 et EM4 au verre traité par différentes concentrations de l'hypochlorite de sodium après 15min d'application. | 183 |
| Figure 53 : Observations au microscope optique des <i>E. coli</i> EM3 et EM4 adhérees au verre traité par le peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%) après 15 mn d'application. Grossissement (Gx400). | 184 |
| Figure 54 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérees d' <i>E. coli</i> EM3 et EM4 au verre traité par différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène après 15min d'application. | 185 |
| Figure 55 : Observations microscopiques des cellules adhérees de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> au verre traité par les concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ;16° et 18° Chl) de l'hypochlorite de sodium – grossissement (x400). | 187 |
| Figure 56 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérees de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> au verre traité par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium après 15 min d'application. | 189 |
| Figure 57 : Observations microscopiques des cellules adhérees de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> au verre traité par le peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%) après 15 mn d'application – grossissement (x400)..... | 190 |
| Figure 58 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérees de <i>S. newport</i> et <i>S. kentucky</i> au verre traité par différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène après 15 min d'application. | 191 |

LISTE DES ABBREVIATIONS

| | |
|-------------------------|--|
| ° Chl | Degré Chlorométrique |
| °C | Degré celcius |
| AFM | Microscope à force atomique |
| AFNOR | Association française de normalisation |
| AISI | American Iron and Steel Institute ou Institut américain du fer et de l'acier |
| CDC | Center for Disease Control and Prevention |
| CMB | Concentration Minimale Bactéricide |
| CMI | Concentration Minimale Inhibitrice |
| DG_{iwi} | Energie libre d'interaction |
| DG_{Tot} | Energie libre d'adhésion |
| DIN | Institut allemand de normalisation |
| DO | Densité Optique |
| EHDEG | European Hygienic Engineering and Design Group |
| FDA | Food and Drugs of Administration |
| HACCP | Hazard Analysis Control Critical Point |
| HS | Hypochlorite de sodium |
| LB | Luria Bertani |
| LBA | Luria Broth Agar |
| Matrice EPS | Matrice exo-polysaccharidique |
| Ow | Angle de contact de l'eau |
| PH | Peroxyde d'hydrogène |
| γ_i^{LW} | Composantes de Lifshitz- Van der Waals de la surface; |
| γ_i^- | Composant e(s) donneurs d'électrons de la surface; |
| γ_i^+ | Composante(s) accepteurs d'électrons de la surface; |
| γ_w^- | Composant e(s) donneurs d'électrons de l'eau. |
| γ_w^+ | Composante(s) accepteurs d'électrons de l'eau; |
| γ_w^{LW} | Composantes de Lifshitz- Van der Waals de l'eau; |
| RASSF | Food and Feed Safety Alerts |
| REACH | Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals |

INTRODUCTION GENERALE

Chaque année, la contamination microbienne coûte à l'industrie alimentaire de nombreux millions de dollars, liés à d'importantes pertes de produits ne répondant pas à l'attente des consommateurs : produits dégradés contenant un nombre inacceptable de contaminants que ce soit en termes de dégradation ou de pathogénicité Flint et al. (2000). Les coûts réels induits par les intoxications alimentaires sont difficiles à déterminer.

Toutefois, nous pourrions nous en faire une idée en invoquant certaines études réalisées : Aux Etats-Unis, l'incidence et le coût des empoisonnements alimentaires varient considérablement. Ainsi, en 1997 un rapport de la FDA adressé au président américain a révélé qu'il y a eu entre 6,5 et 33 millions de cas d'empoisonnements par an. Ces empoisonnements avaient causé 9000 décès et coûté 6,5-34,9 milliards de \$ (FDA, 1997). En 2000, le coût total des toxi-infections alimentaires (provoquant potentiellement des maladies infectieuses) en Nouvelle-Zélande, un pays qui compte à peine 4 millions d'habitants, a été estimé à 88,8 millions de dollars (Scott et al., 2000). En 2008, 1124 foyers de toxi-infections alimentaires collectives ont été déclarés en France. Elles ont affecté 12 549 personnes, dont 5 cas de décès. Les agents responsables les plus fréquemment incriminés ou suspectés sont l'entérotoxine staphylococcique (32 % des foyers) et les salmonelles (25 % des foyers) (INVS, 2008). En dépit des opérations de nettoyage et désinfection des équipements de transformation des aliments, il est difficile, voire impossible de produire des aliments exempts de microorganismes, sauf si le processus comprend une étape de stérilisation.

Dans les milieux naturels ainsi que dans les filières agroalimentaires, les microorganismes sont le plus souvent fixés aux surfaces solides en général conditionnées de nutriments en quantité suffisante pour assurer leur viabilité et leur croissance. Ces microorganismes initialement déposés sur les surfaces, adhèrent et le cas échéant se multiplient activement pour former des colonies de cellules. Cette masse de cellules formée devient de plus en plus importante pour se voir associer progressivement des débris organiques et inorganiques, des nutriments et d'autres microorganismes conduisant ainsi à la formation d'un biofilm microbien.

Le terme biofilm se réfère à la présence d'une matrice de cellules biologiquement actives et de substances extracellulaires en association avec une surface solide (Bakke et al., 1984). Toutefois, selon Costerton et al. (1987), un biofilm est un consortium fonctionnel de microorganismes attaché à une surface et incorporé dans des substances polymériques extracellulaires (EPS) produites par les microorganismes. À cet égard, la formation de polymères organiques est essentielle et contribue ainsi à une colonisation correcte par les micro-organismes (Allison and Sutherland, 1987). Dans le cas où les biofilms sont une nuisance, le terme encrassement microbien ou bio-adhésion est généralement utilisé.

La bio-adhésion s'apparente à la formation indésirable d'une couche de microorganismes vivants et de leurs produits de décomposition sur les surfaces en contact avec le milieu liquide. Plus de 67 ans après les premiers travaux de (Zobell (1943) l'adhésion bactérienne et la formation de biofilms sont toujours une préoccupation dans de nombreux

domaines, et particulièrement dans les domaines alimentaire, agricole et biomédical (Chen et al., 2007, Somers and LEE WONG, 2004, Frank et al., 2003, Jessen and Lammert, 2003, Maukonen et al., 2003, Sihorkar and Vyas, 2001, Flint et al., 1997). Dans les industries alimentaires, la bio-adhésion engendre de graves problèmes tels que l'entrave du flux de chaleur au travers des surfaces d'acier (zones de refroidissement par exemple), l'augmentation de la résistance par frottement du liquide à la surface (diminution de l'entrefer) ainsi que l'augmentation du taux de corrosion des surfaces conduisant à des pertes d'énergie, de production et requiert potentiellement de nouveaux investissements.

En outre, les biofilms constitués de flores d'altération ou de pathogènes à la surface des aliments et dans l'environnement industriel (ateliers, équipements, bâtiments) peuvent conduire à une contamination croisée. Diverses études indiquent que le mode de vie des biofilms, leur structure et leur composition conduisent à une augmentation de résistance aux produits antimicrobiens (Simões et al., 2006, Langsrud et al., 2003). Les biofilms sont plus résistants aux agents antimicrobiens que les cellules planctoniques. Cette plus grande capacité de résister rend leur élimination plus délicate. Ainsi, le nettoyage et désinfection des installations en industries alimentaires demeure un grand défi, voire même une nécessité quant à une meilleure hygiène en agro et en bio-industries (Simões et al., 2006).

De plus, l'émergence de bactéries résistantes aux agents antimicrobiens conventionnels montre clairement que de nouvelles stratégies de contrôle des biofilms sont nécessaires. En vue de diminuer l'usage de produits inefficaces ou présentant des risques inacceptables pour l'homme, l'animal ou l'environnement, l'élimination des biofilms est réglementée au niveau européen (réglementation (REACH, 2007) et directive Biocides 1998). Le nombre de produits détergents chimiques et biocides autorisés pour le nettoyage industriel est continuellement restreint.

Au Maroc, la réglementation relative à la maîtrise des biofilms dans les industries alimentaires reste très générale et limitée. En effet, l'Office Nationale de la sécurité sanitaire des aliments (ONSSA) exige, dans leurs démarches d'agrément sanitaire des industries alimentaires, la mise en place de la démarche HACCP. Cette dernière permettra la maîtrise de la sécurité sanitaire des produits alimentaire à travers la mise en place de bonnes pratiques d'hygiène, la conception hygiénique des équipements à travers le choix des matériaux, la sélection des détergents et des désinfectants et des procédures d'hygiène adéquates.

D'après les recommandations de l'ONSSA, le programme préalable lié à l'HACCP exige à ce que les désinfectants choisis soient appropriés aux germes concernés. Par ailleurs, pour éviter la création de résistances dans la flore microbienne et limiter la création de biofilms, il est conseillé de changer régulièrement les désinfectants utilisés (matières actives différentes), ou d'en utiliser différents en alternance, en particulier en fonction des résultats des contrôles bactériologiques de surface réalisés pour vérifier l'efficacité du nettoyage/désinfection. Ces exigences et recommandations reste très générale et non justifié scientifiquement vue que l'efficacité des produits de désinfection diminue significativement

sur les cellules bactériennes en biofilm comparativement à l'état planctonique. Aussi, les tests d'efficacité du nettoyage et désinfection dans les industries sont généralement déterminés dans des suspensions, qui ne reproduisent pas les conditions de croissance sur les surfaces.

Comprendre et maîtriser les mécanismes d'organisation de la vie sur les surfaces constituent donc un impératif pour apporter des réponses pertinentes aux questionnements contemporains de la société et des industries. De nombreuses recherches sont actuellement menées afin de déterminer les mécanismes mis en jeu permettant d'activer une résistance à certains produits. La majeure partie de ces recherches porte sur l'étude des biofilms, qui jouent un rôle important dans la protection des bactéries contre l'exposition à des agents désinfectants. Mais peu d'étude ont concentré leurs travaux sur les effets des traitements des surfaces par les protocoles de désinfections et ce qu'ils peuvent engendrer comme changement dans la structure des surfaces et par la suite la favorisation ou pas de l'adhésion microbienne.

C'est dans ce contexte que s'est inscrit ce travail de recherche, dont l'objectif fondamental est l'étude de l'hygiène des surfaces en industrie agroalimentaire par :

- (i) La compréhension fine des mécanismes biologiques, physico-chimiques et thermodynamiques régissant l'adhésion des microorganismes (*Escherichia coli*, salmonelles) isolées d'environnement industries agroalimentaires,
- (ii) L'étude de l'efficacité des désinfectants d'hypochlorite de sodium et de peroxyde d'hydrogène, utilisés dans les procédures de désinfections, sur l'adhésion microbienne des souches d'*Escherichia coli* et des salmonelles.
- (iii) L'étude de l'effet de ces produits sur les propriétés des surfaces du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L, couramment utilisées dans les équipements et les installations agroalimentaires, et toutes les conséquences éventuelles sur l'adhésion microbiennes.

L'aboutissement de ce projet supposait la combinaison de différentes disciplines scientifiques. Il a donc été réalisé dans un esprit de pluridisciplinarité qui s'est traduit par la mise à profit de compétences internes au laboratoire et par l'établissement de collaborations extérieures.

Ce travail s'inscrit dans le cadre du programme national du développement de la recherche sectorielle lancé par le Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique (RS/2011/32). Le projet est intitulé : Etude de la formation des biofilms sur les matériaux utilisés dans l'industrie agroalimentaire : prévention de leurs formations et recherche de moyens efficaces pour leur éradication. L'institution coordinatrice est la Faculté des Sciences et Techniques – Université Sultan Moulay Slimane de Beni Mellal et les partenaires du projet sont l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès et L'Institut Pasteur du Maroc.

PREMIERE PARTIE :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : HYGIENE DES SURFACES EN MILIEU AGROALIMENTAIRE**Résumé**

Ce chapitre introductif a pour but de présenter, une mise au point bibliographique sur la sécurité des aliments et l'hygiène des surfaces en milieu agroalimentaire. Pour ce, nous allons présenter la problématique de l'hygiène des surfaces en contact avec les aliments tout en discutant le choix des matériaux destinés à être en contact avec les matrices alimentaires. Par la suite, nous allons présenter les organismes de normalisation et de certification les plus importants opérant dans le domaine de l'hygiène de surface des équipements industriels. Aussi, une partie importante de ce chapitre sera consacrée à la présentation des critères de conception hygiénique des équipements industriels notamment en contact des aliments.

INTRODUCTION

En industrie alimentaire, le système HACCP (Hazard Analysis Control Critical Point) est un programme fondamental de gestion des risques (agents pathogènes, allergènes, produits chimiques, corps étrangers) liés au processus de fabrication des aliments. Le système HACCP repose sur l'exigence que les conditions préalables HACCP (nettoyage et désinfection, hygiène personnelle, conception des équipements, maintenance, lutte contre les parasites, etc.) soient en place, puis se concentre sur la gestion des risques dans le processus de fabrication des aliments. Les risques qui doivent être contrôlés au cours du processus, de telle sorte qu'en cas d'échec des contrôles, sont portés au niveau des points de contrôle critiques (CCP).

Bien que ce programme d'analyse des risques ait réduit les risques d'intoxication alimentaire, des alertes et rappels d'intoxication alimentaire sont toujours publiés en Europe (RASSF) et aux États-Unis (CDC2). Si ces alertes et ces rappels sont analysés au cours des 10 dernières années, il y a peu de preuves, voire aucune, de contamination des aliments par des défaillances du CCP. L'intoxication alimentaire est plutôt liée à la pré-contamination des matières premières avant le traitement (en particulier les produits frais) ou à la contamination après le traitement des aliments prêts à consommer. Les contrôles visant à prévenir la contamination dans ces cas sont des conditions préalables HACCP, et maintenant l'attention et la concentration de l'industrie de la transformation des aliments reprennent ces éléments essentiels de la gestion des risques.

Les conditions préalables HACCP commencent par l'infrastructure du milieu de fabrication d'aliments. Il est essentiel que les entrepôts de transformation des aliments et les zones de production soient conçus pour empêcher l'exposition aux dangers (parasites, micro-organismes, débris physiques) provenant de l'environnement. La structure du bâtiment ne doit pas non plus présenter de danger, et les fournisseurs de bâtiments tels que les dalles de plancher, les installateurs de drains et les fournisseurs de revêtements de sol doivent s'assurer que les éléments de construction, tels que les interfaces sol / drains, sont durables et ne se détériorent pas ou deviennent des points de refuge dangereux.

Dans l'usine, les surfaces en contact avec les aliments, le matériel de transformation des aliments, les surfaces et le matériel annexe tel que le matériel de nettoyage doit être construits dans la mesure du possible avec des matériaux approuvés pour le contact avec les aliments. Les principes de conception hygiénique, tels que proposés par exemple par le groupe européen de conception des équipements d'hygiène (EHEDG) en Europe devrait également être incorporé pour tous les équipements services et équipements auxiliaires. Cela garantira que ces équipements ne se transforment pas de matériaux de construction et de production au matériau dangereux aux aliments par leurs risques de bio contamination de produits alimentaires.

Les souillures organiques, inorganiques et microbiennes sont retirées de l'infrastructure de fabrication à la fin de la production par des programmes de nettoyage et de désinfection conçus pour les caractéristiques de souillure spécifiques. Le nettoyage et la désinfection jouent également un rôle de plus en plus important dans la gestion des risques et, dans de nombreux cas, le nettoyage et la distribution en fin de production constituent une barrière de contrôle utilisée. Ces méthodes de nettoyage doivent être entièrement validées, puis contrôlées et vérifiées efficacement.

La maîtrise de la qualité microbiologique des surfaces des équipements des ateliers de transformation alimentaire est une priorité chez les industriels. Dans certains cas, les procédures de nettoyage/désinfection s'avèrent limitées, et une contamination microbienne peut alors subsister. Si cette flore résiduelle contient des micro-organismes pathogènes et/ou d'altération, elle pourra entraîner des conséquences importantes sur le plan de la santé publique et sur le plan économique (Briandet et al., 1999b).

Il est donc essentiel d'accorder une attention particulière aux conditions préalables HACCP pour gérer les risques de contamination des aliments et assurer la sécurité des aliments. Alors, il est important de commencer par un choix adéquat des matériaux construction afin d'augmenter d'avantage l'efficacité des protocoles de nettoyage et désinfection ainsi que minimiser tout risque de bio contamination.

I. Hygiène des surfaces dans les industries alimentaires

L'hygiène est un ensemble de mesures et de précautions prises pour préserver, voire améliorer la santé. Ce concept très vaste peut être divisé, selon en trois sous-ensembles :

- Hygiène individuelle qui comprend l'ensemble des soins personnels,
- Hygiène collective qui comprend un ensemble de règles destinées à arrêter la propagation des maladies contagieuses,
- Hygiène alimentaire qui vise l'équilibre et la salubrité des aliments.

En ce qui nous concerne, nous nous intéresserons uniquement à l'hygiène alimentaire. L'hygiène prend une place prépondérante dans les processus de fabrication. Son objectif dans les industries agro-alimentaires, c'est d'améliorer la qualité bactériologique des produits finis

et d'assurer la maintenance du matériel et les locaux de fabrication afin de conserver leur état initial (Carlier et al., 1985). La biocontamination des surfaces dans les industries agro-alimentaires peut entraîner des pertes de rentabilité importantes liées notamment à : une augmentation de la consommation d'énergie due à un encrassement des matériaux ; une réduction de la productivité liée aux arrêts de production pour éliminer la bio-salissure ; une dégradation du produit fini ; une augmentation des coûts de maintenance et des coûts d'exploitation. Lorsqu'elle implique des germes pathogènes, cette biocontamination peut être à l'origine de problèmes de santé publique parfois sévères.

Selon les données de l'Institut de veille sanitaire, un tiers des agents pathogènes responsables d'infections (estimées entre 735000 et 770000 par an) est apporté par la voie alimentaire (Vaillant et al., 2004). Cette biocontamination se fait notamment par les surfaces en contact. En effet, toute surface en contact avec des micro-organismes pourra, plus ou moins rapidement, être contaminée par ces germes. Les conditions qui règnent sur les surfaces des ateliers et des équipements des industries agro-alimentaires étant généralement favorables à la croissance cellulaire, ces micro-organismes adhérents pourront se multiplier, et former des édifices tridimensionnels plus ou moins complexes et cohésifs, généralement dénommés « biofilms ». Il a été montré que l'état physiologique des micro-organismes au sein d'un biofilm pouvait s'apparenter à certains états de stress ou de latence augmentant ainsi leur résistance aux facteurs défavorables de l'environnement (Prakash et al., 2003), par exemple les procédures de nettoyage et de désinfection. Même présents en faible nombre, les germes résiduels peuvent, après transfert à un aliment où règnent des conditions favorables à la croissance, se multiplier et conduire, dans le cas de bactéries pathogènes, à des doses infectantes (Pérez-Rodríguez et al., 2008).

On sait aujourd'hui que toutes les surfaces sont susceptibles d'être contaminées : aciers inoxydables, polymères, céramiques, verre... Certaines zones sont cependant plus propices à la biocontamination en raison de leurs caractéristiques chimiques, physico-chimiques (caractère hydrophobe ou hydrophile, propriétés électriques en particulier) et de leur topographie. Les lieux où de fortes contaminations de surface ont été constatées et qui peuvent donc être des sources permanentes de contamination, sont généralement des zones de rétention peu accessibles au nettoyage, comme les coudes de tuyauterie, les tapis de convoyeur, les canalisations d'écoulement d'eaux usées, les sols, les joints...

Conscient des enjeux socio-économiques et scientifiques que peuvent générer de tels phénomènes bio-adhésifs, le Laboratoire bioprocédés et bio-interfaces s'est fixé plusieurs missions, parmi lesquelles l'amélioration des connaissances des phénomènes bio-adhésifs (incluant l'adhésion microbienne et la formation de biofilms) pour proposer, aux industriels et aux filières du secteur agro-alimentaire, des solutions innovantes dans la maîtrise du risque sanitaire des produits et de l'hygiène des matériaux.

II. Recherches scientifiques en Hygiène des surfaces – Biofilms

La première étude réalisée sur l'adhésion des microorganismes aux surfaces fut celle de Zobell (1943) dans laquelle il décrit l'adhésion des bactéries marines aux surfaces submergées. Dans cette étude, il a observé que l'adhésion des bactéries était dépendante du temps, montrant ainsi que la boue observée sur la surface a augmenté avec le temps. Depuis cette époque, l'adhésion bactérienne dans le milieu marin a été largement étudiée en particulier l'encrassement des coques des navires se traduisant par un frottement plus important avec l'eau et augmentant de façon très significative la quantité de carburant nécessaire pour déplacer les bateaux.

Depuis, des biofilms ont été observés dans de nombreux environnements. La prédominance du mode de vie sous forme de biofilm ne fut cependant affirmée qu'en 1978 (Costerton et al., 1978).

Avant les années 1980, les informations concernant l'adhésion bactérienne conduisant à la formation de biofilms étaient relativement parcellaires. Aujourd'hui la preuve de la participation des biofilms dans la contamination des aliments par les équipements de transformation est avérée. Les dangers dus à la présence de bactéries dans l'environnement alimentaire incluent : l'accumulation du biofilm sur les surfaces des aliments, la colonisation microbienne dans les réservoirs de stockage, l'encrassement des échangeurs de chaleur et enfin l'adhésion de spores sur les emballages et les surfaces des matériaux (Kirtley and McGuire, 1989).

Il a été montré que plus de 99% des micro-organismes se développaient en biofilms (Donlan and Costerton, 2002) sur une grande variété de surfaces telles que les métaux, les plastiques, les tissus vivants (tissus humains, feuilles et racines des végétaux) et les surfaces minérales (pierres, bétons). Un biofilm peut être constitué d'une seule espèce bactérienne ou de plusieurs espèces de bactéries mais aussi de champignons, d'algues et de protozoaires (Lock, 1993).

Par ailleurs, les recherches en hygiène des surfaces en relation avec les biofilms datent de 1989 avec (Schulze-Röbbecke and Fischeder, 1989). Par ailleurs, la problématique de la résistance des biofilms aux protocoles de nettoyage et désinfection n'a été abordée qu'en 1987 par Exner et son équipe de recherche qui ont étudié l'influence des produits de désinfection et le nettoyage mécanique sur les biofilms (Exner et al., 1987).

L'évolution du nombre des publications scientifiques depuis 1987 dans lesquelles les mots « biofilm- désinfection » apparaît dans le titre, le résumé ou en mot clef d'après Pubmed sont présentés dans la figure 1.

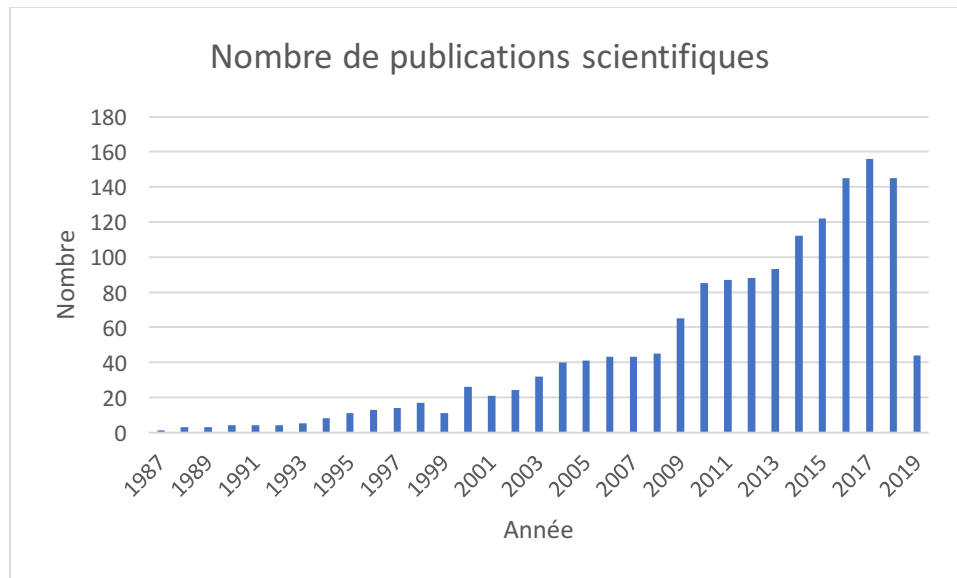


Figure 1 : Évolution du nombre de publications par an dans lesquelles les mots « biofilm - désinfection » apparaît dans le titre, le résumé ou en mot clef (source Pubmed)

La figure 1 montre qu'à partir des années 2003/ 2004, le nombre de publication a augmenté en atteignant environ 40 publications. Entre les années 2010 et 2013, cette valeur a augmenté de double jusqu'à environ 80 publications. Et à partir de l'année 2014, ce nombre a augmenté très remarquablement jusqu'à une valeur de 156 publications en 2017. Ceci confirme d'avantage que la tendance actuelle en termes de recherche scientifique en désinfection et efficacité contre les biofilms donne plus d'importance à cette problématique. Aussi, le développement technologique en matière des techniques d'analyse et quantification des biofilms a aidé significativement dans cette évolution du nombre des travaux de recherche.

III. Organismes de normalisation et certification en hygiène des surfaces des équipements

III.1. European Hygienic Engineering Design Group (EHEDG)

Fondé en 1989, le EHEDG est un consortium de fabricants d'équipements, d'industries alimentaires, d'instituts de recherche et d'organismes de santé publique visant à promouvoir l'hygiène durant les phases de traitement et d'emballage des produits alimentaires. Le principal objectif de l'EHEDG est la promotion de la sécurité alimentaire par l'amélioration de l'ingénierie et de la conception hygiéniques dans tous les aspects de la fabrication alimentaire. L'EHEDG soutient activement la législation européenne, qui exige que le traitement, la transformation et l'emballage de la nourriture s'effectuent dans des conditions d'hygiène, avec des machines hygiéniques et dans des locaux hygiéniques (Directive 2006/42/EC pour les équipements, EN 1672-2 et EN ISO 14159 Exigences d'hygiène). La Directive 8 de l'EHEDG, « Critères de conception hygiénique des équipements », et la

Directive 32, « Matériaux de fabrication des équipements en contact alimentaire » indiquent des critères de conception hygiénique des équipements.

III.2. Normes 3-A Sanitary Standards Inc. (3-A SSI)

L'organisme 3-A Sanitary Standards est l'équivalent américain, en plus ancien, du EHEDG. Les premières normes 3-A Sanitary Standards pour l'évolution sanitaire et de l'hygiène alimentaire ont été développées à la fin des années 1920. 3-A Sanitary Standards, Inc. (3-A SSI) a été intégré à l'EHEDG à la fin de l'année 2002. Les cinq membres fondateurs sont : American Dairy Products Institute (ADPI) ; International Association of Food Industry Suppliers (*IAFIS) qui est devenue la Food Processing Suppliers Association ; International Association for Food Protection (IAFP) ; International Dairy Foods Association (IDFA) et 3-A Sanitary Standards Symbol Administrative Council. De plus, l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (Food & Drug Administration – FDA), le ministère de l'Agriculture américain (USDA) et le Comité de pilotage de 3-A font partie de la direction de 3-A SSI.

Cet organisme à but non lucratif encourage le développement de normes volontaires et de bonnes pratiques en matière d'hygiène dans l'industrie alimentaire. Il supervise également le Label 3-A, utilisé pour identifier les équipements fabriqués selon les normes de 3-A Sanitary faisant partie de son programme Third Party Verification (TPV). La mission de 3-A SS consiste à améliorer la sécurité alimentaire pour les consommateurs de nourriture, boissons et produits pharmaceutiques à travers le développement et l'usage des normes 3-A Sanitary Standards et des bonnes pratiques 3-A Accepted Practices. Les critères de 3-A pour la conception hygiénique sont similaires à ceux définis par l'EHEDG.

IV. Critères de conception hygiénique des équipements agroalimentaires

Cette partie présente les principaux critères de conception auxquels doit se comparer tout équipement destiné à la transformation des aliments. Il indique les lignes directrices sur la façon de concevoir, de construire et d'installer un tel équipement afin d'éviter tout impact négatif sur la qualité de l'aliment et en particulier sa sécurité. Ces lignes directrices s'appliquent aux équipements durables utilisés dans la transformation par lots ou continue par des procédés ouverts ou fermés.

La sensibilité d'un produit au développement d'une activité microbienne indésirable détermine le choix de mettre en œuvre un équipement répondant à des exigences hygiéniques plus ou moins marquées. Les produits secs, par exemple, ne permettent pas la croissance des micro-organismes et de ce fait, les exigences seront moins strictes que pour les produits humides. Cependant, si l'équipement doit être utilisé pour fabriquer des produits destinés à des groupes de consommateurs à risque, les exigences relatives à la conception hygiénique seront plus rigoureuses. Dans ce cas, le constructeur devra se mettre en relation avec les autorités en charge de la réglementation de manière à ce qu'un juste compromis soit trouvé.

IV.1. Exigences fonctionnelles

La maintenance ou l'entretien de l'équipement hygiénique en industrie alimentaire doit être facile à réaliser pour assurer pleinement son rôle de prévention de tout problème microbiologique. De plus, l'équipement doit être facilement nettoyable et doit protéger le produit de toute contamination. Dans le cas d'équipement aseptique, l'équipement doit pouvoir être soit pasteurisé soit stérilisé (en fonction de l'application) et doit prévenir toute pénétration de micro-organismes (étanchéité aux bactéries). Il doit être possible de suivre et de maîtriser toutes les fonctions qui sont critiques d'un point de vue de la sécurité microbiologique.

IV.1.1. Nettoyabilité et décontamination

La propreté est une question très importante. Un équipement qui serait difficile à nettoyer nécessitera des procédures plus strictes, requièrent des produits chimiques plus agressifs, des cycles de nettoyage et de décontamination plus longs. Cela entraîne des coûts plus élevés, une disponibilité de l'équipement réduite pour les étapes de production, une durée de vie plus courte de l'équipement et des volumes d'effluents plus importants.

IV.1.2. Prévention de la pénétration des micro-organismes

La pénétration de micro-organismes dans les produits alimentaires doit être évitée d'une manière générale. Il est préconisé de manière générale de limiter le nombre de micro-organismes dans des produits alimentaires autant que possible pour satisfaire aux exigences de santé publique et de durée de vie du produit. L'équipement destiné aux procédés aseptiques doit de plus éviter toute pénétration de microorganismes.

IV.1.3. Prévention de la croissance des micro-organismes

Dans des conditions favorables, la croissance des micro-organismes s'effectue très rapidement. De ce fait, toutes les zones, par exemple les bras morts, espaces et anfractuosités, où les micro-organismes peuvent s'implanter doivent être évitées.

IV.1.4. Compatibilité avec d'autres exigences

Une conception d'équipement avec des caractéristiques hygiéniques excellentes mais avec une inaptitude à remplir ses fonctions est inutile ; de ce fait le concepteur devra trouver le bon compromis. Ainsi, ce compromis devra être compensé par des procédures de nettoyage et de décontamination plus poussées et suffisamment explicitées auprès des utilisateurs finaux afin qu'ils soient conscients de la nature de ce compromis. La nettoyabilité (possibilité de nettoyage) de l'équipement, y compris l'aptitude à être nettoyé en place (NEP) quand cela s'avère approprié, doit être démontrée.

IV.1.5. Validation de la conception hygiénique de l'équipement

Indépendamment de l'importance du savoir-faire et l'expérience sur la conception hygiénique qui sont mises en œuvre pendant la conception et la fabrication, la pratique a

montré l'importance de vérifier si les exigences de conception hygiénique sont satisfaites au travers d'actions comme inspecter, tester et valider. Dans des cas critiques, il peut être nécessaire de vérifier le niveau d'hygiène comme étant un élément à part entière des procédures de maintenance. Le concepteur doit être sûr que les zones concernées sont accessibles pour l'inspection et/ou la validation.

IV.2. Conception hygiénique et fabrication

Pour la conception, la fabrication et l'installation d'équipement, les critères de base suivants doivent être pris en considération :

IV.2.1. Surfaces et géométrie

Les surfaces doivent être nettoyables et ne doivent pas présenter de danger toxicologique par la diffusion de composants dans le produit alimentaire. Toutes les surfaces en contact avec les aliments doivent être résistantes à ceux-ci, aux détergents et désinfectants dans toutes les conditions d'utilisation attendues. Les surfaces en contact avec le produit doivent être en matériaux non absorbants et doivent satisfaire aux exigences de rugosité spécifiées dans le paragraphe II.2.2. ci-après. Les surfaces en contact avec le produit doivent être exemptes d'imperfections telles que des anfractuosités, et de plus :

- Eviter les raccords directs de métal à métal autres que les soudures (le contact métal contre métal peut héberger micro-organismes et souillures). Dans le cas d'équipements destinés à des procédés aseptiques, le danger est également présent, les raccords métal contre métal n'étant pas étanches aux bactéries.
- Eviter les décalages dus au mauvais alignement dans l'équipement et des éléments de tuyauterie.
- Si des joints sont utilisés, leur conception doit être telle qu'aucune anfruosité n'apparaisse dans laquelle des souillures pourraient être piégées et des bactéries s'accumuler et se développer.
- A moins de les déformer pour obtenir un joint statique affleurant avec le produit, l'utilisation de joints toriques en contact avec le produit doit être évitée dans les équipements et les tuyauteries à caractère hygiénique. Pour une conception appropriée avec joints toriques, se référer au document EHEDG No. 16.
- Eliminer tout contact entre le produit et le filetage des vis.
- Les coins doivent présenter de préférence un rayon égal ou supérieur à 6 millimètres ; le rayon minimal étant de 3 millimètres. Les angles aigus ($\leq 90^\circ$) doivent être évités.

S'ils sont utilisés comme point de fermeture, les coins doivent être aussi pointus que possible de manière à former un joint serré à l'interface du produit et du joint. Dans ce cas, un rayon de courbure de 0,2 millimètres peut être préconisé pour éviter tout dommage aux joints élastomères pendant le cycle thermique.

Si pour des raisons techniques et fonctionnelles, aucun de ces critères ne peut être respecté, la perte de nettoyabilité doit être compensée d'une autre manière, et l'on devra démontrer l'efficacité du nettoyage par l'intermédiaire d'essais.

Toutes les surfaces en contact avec le produit doivent être facilement accessibles pour une inspection visuelle et un nettoyage manuel, ou alors il doit être démontré qu'un nettoyage de routine assure l'élimination totale de toute souillure. Si des techniques de nettoyage en place sont mises en œuvre, il doit être démontré que les résultats obtenus sans assurer de démontage des composants sont satisfaisants en réalisant des « Test d'évaluation des caractéristiques hygiéniques d'un équipement »).

IV.2.2. Fini de surface / rugosité de surface

Les surfaces en contact avec le produit doivent avoir une valeur de Ra acceptable et être exemptes d'imperfections telles que les piqûres, fissures et anfractuosités (pour la définition du Ra, voir ISO 4287 : 1997). Les grandes surfaces en contact avec le produit doivent présenter un état de surface de $Ra = 0,8 \mu\text{m}$, ou mieux, bien que la nettoyabilité dépende fortement des techniques de réalisation des finis de surface, étant donné que cela affecte la topographie de surface. On peut noter que l'acier laminé à froid possède une rugosité avec $Ra = 0,2$ à $0,5 \mu\text{m}$ et qu'il ne nécessite pas de polissage pour répondre aux exigences de rugosité superficielles, pourvu que les surfaces en contact avec le produit soient dénuées de toute piqûre, de creux ou d'anfractuosités dans leur état final.

Une rugosité avec un $Ra > 0,8 \mu\text{m}$ est acceptable si les résultats de l'essai ont montré que la nettoyabilité souhaitée est obtenue à l'aide d'autres caractéristiques de conception, ou de procédures comme un débit élevé de solution de nettoyage. En particulier, dans le cas de surfaces de polymères, l'hydrophobicité, la mouillabilité et la réactivité chimique peuvent favoriser la nettoyabilité.

La relation entre le traitement de l'acier inoxydable et la topographie de surface résultante est présentée dans le tableau 1. C'est cette topographie qui oriente la nettoyabilité. Des creux, des plis, des crevasses, des ruptures de surface et des irrégularités qui ont été matées peuvent faire apparaître des zones inaccessibles aux solutions de nettoyage.

Les surfaces n'entrant pas en contact avec le produit doivent être suffisamment lisses pour en assurer un nettoyage aisé.

Tableau 1 : Exemples de traitements de surface d'acier inoxydable et la topographie de surface correspondante (EHEDG, 2004)

| Traitement de surface | Valeurs approx. Ra (μm) | Caractéristiques de la technique |
|--|--------------------------------------|--|
| Laminage à chaud | > 4 | Surface intacte |
| Laminage à froid | 0,2 – 0,5 | Surface lisse intacte |
| Sablage avec billes de verre | < 1,2 | Rupture de surface |
| Sablage avec céramique | < 1,2 | Rupture de surface |
| Grenailage | < 1 | Irrégularités de surface déformée |
| Détartrage | 0,6 – 1,3 | Fissures dépendant de l'état initial de la surface |
| Décapage Nitro-Fluorhydrique | 0,5 – 1,0 | Pics hauts, sillons profonds |
| Polissage électrolytique | | Ecrêtage des pics sans nécessairement améliorer Ra |
| Polissage mécanique avec oxyde d'aluminium et carbure de silicone Grain : | | La topographie superficielle est fortement dépendante des paramètres du processus, comme la vitesse de bande (vitesse laminaire) et la pression. |
| 500 | 0,1 – 0,25 | |
| 320 | 0,15 – 0,4 | |
| 240 | 0,2 – 0,5 | |
| 180 | $\leq 0,6$ | |
| 120 | $\leq 1,1$ | |
| 60 | $\leq 3,5$ | |

IV.2.3. Vidange et aptitude à la vidange

L'extérieur ainsi que l'intérieur de tout équipement et des tuyauteries doivent être auto-vidangeables ou vidangeables, et facilement nettoyaables. Les surfaces horizontales doivent être proscrites ; les surfaces doivent toujours présenter une pente d'écoulement d'un côté. Dans le cas des surfaces externes, la pente doit être orientée de telle manière que le liquide s'écoule hors de la zone principale de production.

IV.2.4. Installation

Le risque de condensation sur les équipements, les tuyauteries et les revêtements intérieurs au sein des différents locaux doit être évité autant que possible. Si cela est inévitable, la conception devra être telle que la condensation soit éloignée du produit. Les équipements et les structures de support doivent être scellées aux surfaces d'appui (sols, murs, colonnes, plafonds) de telle manière qu'il n'y ait ni espaces ni passages. Tout espace entre l'équipement et la construction (sols, murs et plafonds) devra permettre le nettoyage et l'inspection.

IV.2.5. Soudure

Les raccords permanents de métal à métal doivent être soudés en continu et exempts de toute imperfection. Pendant la réalisation de la soudure, une protection des deux côtés des surfaces à souder doit être assurée à l'aide d'un gaz inerte. Si cela est réalisé correctement, la nécessité de procéder à un traitement ultérieur (brossage, polissage) des soudures ne

s'imposera pas. Pour la tuyauterie, la méthode recommandée est le soudage orbital automatique, qui est une méthode fournissant des soudures de très bonne qualité.

Les soudures du côté non en contact avec le produit doivent aussi être continues ; elles doivent être suffisamment lisses pour assurer un nettoyage convenable.

IV.2.6. Supports

Les supports pour tuyauteries ou équipements doivent être fabriqués et installés de telle manière que ni l'eau ni les souillures ne puissent rester sur les surfaces ou à l'intérieur. La possibilité d'une réaction électrolytique entre les matériaux doit être prise en compte.

IV.2.7. Isolation

Les solutions disponibles pour assurer l'isolation des équipements et de la tuyauterie sont les suivants :

Revêtements étanches

Les matériaux d'isolation devraient recouverts d'acier inoxydable, qui doit être entièrement soudé, pour qu'aucune entrée d'air ou d'humidité ne soit possible et qui pourrait de cette manière provoquer la croissance microbienne et augmenter le risque de contamination microbienne, ou la corrosion du revêtement si les matériaux d'isolation venaient à relarguer des chlorures.

Vide

La tuyauterie peut être isolée en évacuant l'air contenu dans l'espace de la double enveloppe. C'est un moyen très efficace de prévenir tous les problèmes mentionnés.

CONCLUSION

Quand un équipement industriel n'est pas conçu suivant les règles de la conception hygiénique, il sera difficile à nettoyer et à désinfecter. Les souillures peuvent être piégées dans les anfractuosités et les zones mortes, permettant ainsi aux micro-organismes piégés de survivre et de se multiplier. Cela peut provoquer des contaminations croisées entre lots fabriqués successivement.

Les équipements en IAA sont destinés prioritairement à une fonction dans le processus de transformation des aliments. Aussi, il est possible que les exigences relatives à l'hygiène soient incompatibles avec leurs modes de fonctionnement. Dans la recherche d'un compromis acceptable, il est impératif de considérer la santé du consommateur comme un risque non négociable. La modification d'une installation existante pour répondre aux exigences relatives à l'hygiène peut occasionner des coûts prohibitifs sans garantie de réussite et la prise en compte de ces exigences dès le projet de conception est largement plus efficace.

Les avantages à long terme de cette manière de procéder permettent non seulement d'assurer la sécurité sanitaire des produits alimentaires, mais également d'augmenter la durée

de vie des équipements, limiter les opérations de maintenance et réduire par conséquent les dépenses d'exploitation.

Dans ce sens, tous les organismes de normalisation et de certification des surfaces hygiéniques sont mis d'accord que les équipements devraient être/avoir :

- Sans fissures ni pièges propices à la contamination, par exemple grâce à l'utilisation de soudures lisses, à l'absence de petits trous, de renforcements et d'angles internes aigus ;
- Une surface de finition lisse ($ra < 0.8\mu\text{m}$) ;
- Faciles à nettoyer (et à sécher), par exemple en étant rapides et faciles à démonter/remonter ou faits d'une seule pièce, ou d'un accès facile à toutes les zones, pour le nettoyage et la désinfection ;
- Fabriqués avec des matériaux adaptés à la sécurité alimentaire, par exemple sans bois ni verre, avec des matériaux non toxiques ;
- Bien fabriqués, par exemple durables, sans matériaux à base de mousse, ni peints ni vernis ;
- Non absorbant ;
- Suffisamment résistants aux températures extrêmes et aux produits chimiques

Certes, ces organismes spécifient les critères de conception hygiéniques des équipements industriels, mais ces critères doivent étudier d'avantage les risques hygiéniques liés à l'adhésion microbienne et la formation des biofilms ainsi qu'à la résistance microbienne aux procédures de nettoyage et désinfection. Aussi, toute combinaison risque de biocontamination, choix des matériaux et méthode d'application des produits de nettoyage et désinfection devrait être justifiée scientifiquement et maîtrisée pour garantir une lutte optimale contre les biocontaminations.

CHAPITRE II : BIOFILMS DANS LES ENVIRONNEMENTS AGROALIMENTAIRES

Résumé

Ce chapitre introductif a pour but de présenter, une mise au point bibliographique sur l'adhésion bactérienne et la formation de biofilms. Dans une première partie, les différents facteurs qui influencent l'adhésion bactérienne à la surface des équipements industriels, ainsi que les différentes interactions qui peuvent exister entre une bactérie et un support solide seront présentés. L'objectif visé dans cet état de l'art est de montrer la complexité du phénomène d'adhésion et des différentes composantes qui peuvent intervenir dans la formation des liaisons bactérie-paroi point de départ des structures bactériennes complexes appelées « biofilms ». La seconde partie de ce chapitre sera consacrée à la résistance des biofilms aux composés antimicrobiens.

INTRODUCTION

Les entreprises de transformations alimentaires doivent très régulièrement nettoyer leurs installations afin de maintenir la fonctionnalité des équipements et des machines et d'assurer la sécurité sanitaire de leurs produits. Il s'agit ici de réduire le risque de contamination des produits en particulier par des pathogènes, à un niveau acceptable. Un risque nul n'est malheureusement pas envisageable. En effet, les procédures d'hygiène se révèlent parfois inefficaces.

L'aptitude au nettoyage des équipements et des installations industrielles dépend de trois ensembles de facteurs (LELIEVRE et al., 2001).

Nous avons :

1. Les conditions environnementales qui président à la formation du dépôt et vont conduire à générer des structures aux propriétés adhésives liées à la transformation de l'aliment, favoriser le transport de microorganismes près des parois et donc leur adhésion,
2. La conception des systèmes de production à savoir le choix des matériaux, le choix de la géométrie des équipements et de leurs assemblages pour former la ligne de transformation,
3. Les procédures d'hygiène, comprenant le choix des temps, des détergents et désinfectants et de l'importance de l'action mécanique liée aux écoulements de fluides nettoyants,

Le nettoyage permet en général d'éliminer les souillures et toute matière encrassante. La présence de résidus après nettoyage constitue une source de nutriments pour les microorganismes qui peuvent avoir suffisamment de temps pour se développer et remettre en cause le bon état sanitaire des produits lors de leur transformation suivante.

L'adsorption sur les surfaces solides de souillures organiques et minérales générées par le contact de l'aliment au cours de sa transformation dans les industries alimentaires participe très largement au risque d'adhésion et de développement de l'encrassement microbien et a fortiori si cette contamination n'est pas éliminée par les cycles de nettoyage et de désinfection, ils y trouvent une source de nutriments. L'étude du nettoyage a fait l'objet de relativement peu de travaux par comparaison à ceux réalisés sur l'encrassement des surfaces (Leclercq-Perlat and Lalande, 1994). Par ailleurs, les souillures impliquant des microorganismes sont le plus souvent microscopiques en industries alimentaires, et nous sommes loin heureusement des conditions rencontrées dans les réseaux de distribution d'eau ou encore dans les systèmes de refroidissement à eau circulante où on peut trouver des dépôts de taille millimétrique. Cette importance relative, ne présente pas moins des risques potentiellement importants dus à la présence possible de microorganismes pathogènes.

Le phénomène d'adhésion bactérienne a été étudié dans de nombreux domaines où la présence de micro-organismes adhérents a un impact négatif. Ces domaines comprennent la formation de la carie dentaire (Gibbons and van Houte, 1980), la colonisation des implants médicaux (Dankert, 1986), la formation de biofilms dans les conduites d'eau de boisson (LeChevallier et al., 1987) et dans les environnements de traitement des denrées alimentaires ((Holah et al., 1989).

I. Présence de biofilms bactériens en environnement agroalimentaire et conséquences

Selon Costerton et al. (1987), un biofilm est un consortium fonctionnel de microorganismes attachés à une surface et incorporés dans des substances polymériques extracellulaires (EPS) produites par les microorganismes. La formation du biofilm, comme nous l'avons précédemment évoqué, constitue une étape consécutive à l'adhésion bactérienne.

Depuis l'époque de Louis Pasteur, les microbiologistes ont étudié des cultures pures de micro-organismes, le plus souvent en suspension dans des bouillons nutritifs. Aujourd'hui, tous s'accordent sur le fait que les bactéries se développent de préférence à la surface de supports et principalement au sein de biofilms. L'épaisseur du biofilm peut varier de quelques micromètres à plusieurs millimètres et contenir 90–97 % d'eau. Dans les biofilms d'espèces mixtes, les cellules bactériennes peuvent être accompagnées par des eucaryotes, une variété de polysaccharides extracellulaires (EPS), d'enzymes et autres protéines, de bactériocines et de faibles solutés de masse, ainsi que des acides nucléiques qui peuvent être présents à la suite de la lyse des cellules (Sutherland, 2001). Des biofilms d'espèces mixtes peuvent être plus stables que des biofilms mono espèces (Mosteller and Bishop, 1993) et cela peut être important dans des situations telles la surface des végétaux qu'on retrouve dans les produits de quatrième gamme, où de nombreuses espèces sont potentiellement présentes.

Il est bien établi à ce jour que de nombreux microorganismes pathogènes forment des biofilms à la fois sur les aliments ou sur les surfaces potentiellement destinées à être en contact avec les denrées alimentaires lorsque les conditions environnementales sont favorables. Depuis les travaux de Duguid et al. (1966) sur *Salmonella*, de nombreuses études ont décrit la capacité des pathogènes d'origine alimentaire à s'attacher aux aliments et aux surfaces alimentaires. Nous pouvons citer les travaux sur *listeria monocytogenes* (FRANK and Koffi, 1990, HERALD and ZOTTOLA, 1988, Mafu et al., 1990), *Yersinia enterocolitica* (HERALD and ZOTTOLA, 1988), *Campylobacter jejuni* (Kuusela et al., 1989) et *Escherichia coli* O157 : H7 (Dewanti and Wong, 1995). L'adhésion des microorganismes pathogènes aux surfaces alimentaires et leur développement sous forme de biofilms ou au sein de biofilms multi-espèces, comme c'est généralement le cas, peuvent entraîner des risques importants pour la santé des consommateurs comme l'ont montré les problèmes récents liés à la présence par exemple d'*E. coli* O157 : H7 sur des produits carnés ou *E. coli* entéro-hémorragique (ehc) sur produits végétaux (note de l'anses en juin 2011).

Des études réalisées sur la composition microbienne des biofilms qui se forment à la surface des équipements de traitement de diverses industries ont été menées sur plusieurs travaux (Bagge-Ravn et al., 2003, Gunduz and Tuncel, 2006, Guobjoernsdottir et al., 2005, Sharma and Anand, 2002). Ces enquêtes ont mis en évidence la présence de ces biofilms « pathogènes » aussi bien au sein de machines que sur les surfaces des ateliers de transformation. Dans les industries laitières, Kirtley and McGuire (1989) ont précisé que les risques sanitaires sont dus à la présence de biofilms sur les surfaces, à la colonisation microbienne des réservoirs de stockage de lait, à l'encrassement des surfaces d'échange de chaleur et à la présence de formes sporulées sur les matériaux d'emballage et de conditionnement. Les spores de *B. cereus* par exemple, présentes dans le lait cru avant traitement peuvent rester sur certaines parties des équipements, dans des zones d'échange de chaleur en raison de leur thermo-résistance ce qui favorise leur germination et leur développement sous forme de biofilms et ainsi contaminer le produit fini (Giffel et al., 1997).

Une étude réalisée par Eneroth et al. (1998) a montré la contamination des emballages de lait pasteurisé par des bactéries Gram (-) psychrotrophes, cette contamination a été associée à l'eau de rinçage. Cela suggère que ces bactéries ont formé des biofilms dans le système de distribution des eaux de rinçage. Une autre étude réalisée par (Langeveld et al. (1995) sur une installation pilote au laboratoire a montré une augmentation de la concentration bactérienne d'un facteur de 10^6 . Ainsi, dans leur expérience, ils ont chauffé du lait dans un échangeur tubulaire en acier inoxydable et montré le lien direct entre la densité de bactéries sur les parois des tubes et la concentration de contaminants dans le lait après chauffage.

Langeveld et al. (1995) et Murphy et al. (1999), ont suggéré que la présence et l'augmentation de la contamination bactérienne du lait sont la conséquence d'une contamination préalable des équipements utilisés pour sa transformation. Les travaux récents de Scott et al. (2007) situent l'origine de la contamination du lait en poudre par des bactéries sporulées au niveau des échangeurs de préchauffage et de l'évaporateur. Les spores étaient détectées entre 9 et 18h après le début de la production. Une des conséquences était la présence de 10^6 ufc.ml⁻¹ dans le produit fini après 18h.

Les technologies membranaires sont également la source de contaminations que ce soit en ultrafiltration (uf) ou en osmose inverse (RO) largement utilisées dans l'industrie alimentaire et dans les procédés de traitement d'eau résiduaire (Golomb and Besik, 1970, Glover, 1985). Par exemple, dans un processus de traitement des eaux usées par osmose inverse, le développement d'un biofilm microbien contribue à une réduction significative des flux d'eau et de la détérioration de la performance globale de la membrane.

I.1. Formation de biofilms

La formation de biofilms est un processus relativement lent et peut atteindre le millimètre d'épaisseur en quelques jours en fonction des conditions de culture (Melo et al., 2012). Les micro-organismes dans un biofilm ne sont pas uniformément distribués. Ils poussent sous forme de micro colonies emprisonnées dans une matrice intercalée de canaux très perméables à l'eau (Costerton et al., 1994). La composition d'un biofilm peut être hétérogène, en raison de la colonisation par différents micro-organismes possédant différents besoins nutritionnels. Les biofilms n'existent pas nécessairement sous forme de couche uniforme sur l'ensemble de la surface du substrat. L'augmentation de la taille d'un biofilm est favorisée par le dépôt ou par la fixation d'autres solutés organiques et inorganiques et de particules présentes dans la phase liquide environnante (Melo *et al.*, 2012). Il existe un certain nombre de mécanismes par lesquels bon nombre d'espèces microbiennes (Bryers and Ratner, 2004) peuvent entrer en contact de façon étroite avec une surface, s'attacher fermement, promouvoir les interactions intercellulaires et croître sous forme de structures complexes. La formation de biofilm comprend différentes étapes et le mécanisme de formation des biofilms a été largement décrits par plusieurs chercheurs dans des études récentes (Chmielewski and Frank, 2003, Donlan and Costerton, 2002, O'Toole et al., 2000, Verstraeten et al., 2008).

Les processus identifiés régissant la formation des biofilms sont présentés dans la figure 2 d'après (Bryers and Ratner, 2004). Nous pouvons citer les étapes suivantes après l'adhésion :

- La production de molécules de signalisation intercellulaire ;
- Le transport de substrats dans le biofilm ;
- Le métabolisme du substrat par les cellules liées du biofilm et le transport des produits du biofilm. Ce processus (métabolisme du substrat et transport des produits) est accompagné de la croissance des cellules et la production d'EPS ;
- L'élimination des parties du biofilm par détachement ou desquamation.

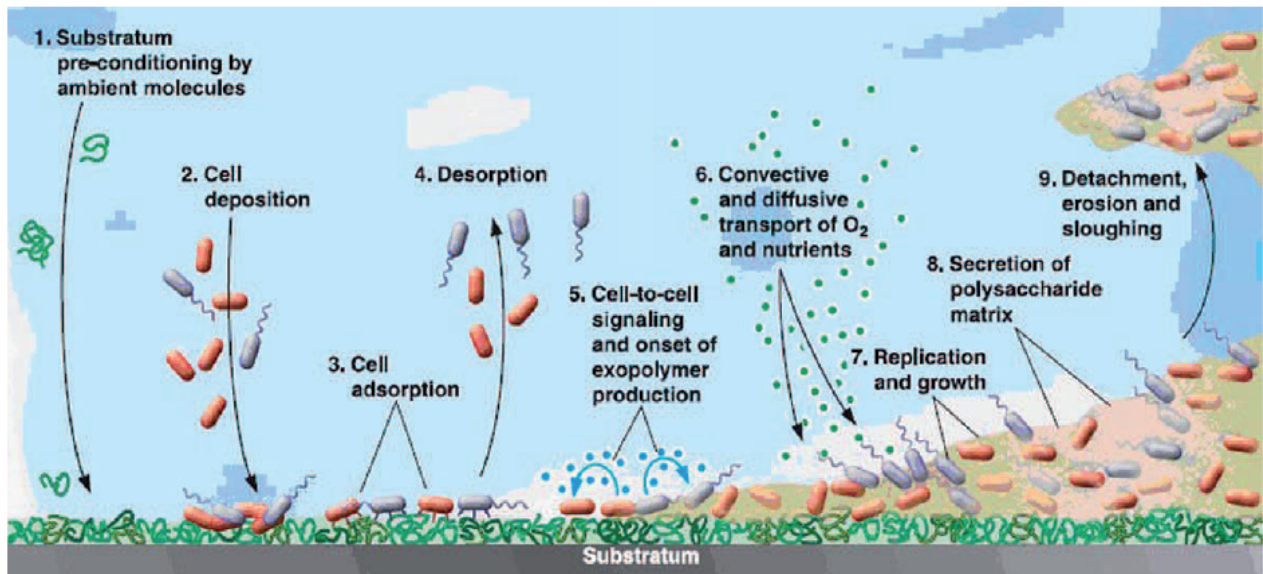


Figure 2 : Processus régissant la formation de biofilm (Bryers et Ratner, 2004).

I.2. Variables influençant le développement du biofilm

D'après Jefferson (2004), la formation de biofilms permet aux microorganismes de se défendre contre les conditions difficiles via une colonisation de niches favorables assurant protection et nutriments. Ainsi, les avantages pour un microorganisme de la vie au sein d'un biofilm sont :

Protection et défense : réduction des effets de la turbulence (Sutherland, 2001) ; réduction des agressions environnementales liées à la présence de molécules destinées à détruire les cellules comme les antibiotiques ou les désinfectants mais aussi contre les substances nettoyantes destinées à fragiliser, découper... et éliminer les biofilms des surfaces (Costerton et al., 1985, Nichols, 1989).

Colonisation : par réduction de la diffusion d'exo-enzymes (Sutherland, 2001), et l'augmentation de la concentration d'éléments nutritifs (van Loosdrecht et al., 1990);

Communauté : la possibilité d'organisations optimales grâce au transfert de signaux entre cellules destinée à faire circuler de « l'information génétique » comme les gènes de résistance (Morton and Gaylarde, 2001).

La dynamique de formation et de développement de biofilms facilite la transmission d'agents pathogènes en leur fournissant un environnement protecteur stable. Le biofilm agit comme une source de diffusion d'un grand nombre de micro-organismes dans l'environnement. Des amas du biofilm ou « clusters » par exemple, sont détachés soit par action mécanique liée à l'écoulement (Hall-Stoodley and Stoodley, 2002) d'un fluide soit naturellement (sloughing) et ainsi dispersés dans l'environnement.

Tableau 2 : Paramètres importants liés aux surfaces, à l'environnement et aux cellules bactériennes influençant la formation et le développement du biofilm (Donlan and Costerton, 2002).

| Surfaces | Fluide | Cellules |
|-------------------------|--------------------------------------|---|
| Texture ou rugosité | Vitesse du fluide | Hydrophobicité de la surface des cellules |
| Hydrophobicité | pH | Appendices extracellulaires |
| Chimie de surface | Température | substances extracellulaires polymériques |
| Charge | Cations | Molécules de signalisation |
| Film de conditionnement | Présence de produits antimicrobiens | |
| | Disponibilité des éléments nutritifs | |

Les paramètres biologiques qui réglementent la formation du biofilm, visés dans Tableau 2, sont brièvement décrits dans les sections suivantes.

I.3. Substances polymériques extracellulaire (EPS)

La plupart des bactéries produisent des substances polymériques extracellulaires (EPS) d'origine biologique qui participent à la formation des agrégats microbiens (Geesey, 1982). La production de substances exopolymériques n'est possible que si la croissance bactérienne se fait dans une suspension de culture ou dans le biofilm. Le biofilm microbien ou floc est constituée de cellules bactériennes enveloppées par une matrice de grosses molécules de polymères, les EPS. Par définition, les EPS sont situées à l'extérieur de la surface de la cellule. Leur composition peut être contrôlée par différents processus, comme la sécrétion active, l'excrétion de matériau de surface des cellules, la lyse de cellule et l'adsorption de l'environnement (Wingender et al., 1999). Les fonctions de la matrice exopolysaccharidique dans la fixation des bactéries aux surfaces sont diverses :

- L'agrégation des cellules bactériennes dans les flocs et la stabilisation de la structure du biofilm ;
- La formation d'une barrière protectrice qui offre une résistance aux biocides ou autres effets nocifs ;
- La rétention d'eau ;
- La sorption des composés organiques exogènes pour l'accumulation d'éléments nutritifs de l'environnement ;
- L'accumulation d'activités enzymatiques, comme la digestion des macromolécules exogènes pour l'acquisition d'éléments nutritifs.

La matrice d'EPS est un moyen permettant la communication et la coopération entre les cellules dans un agrégat microbien. La stabilité de la structure et la proximité des bactéries entre elles dans un biofilm exigent que les cellules soient étroitement liées entre elles grâce aux EPS (Wingender *et al.*, 1999). Il est clair que les EPS sont responsables de la liaison entre les cellules et d'autres particules environnantes (cohésion) et avec la surface (adhérence) (Characklis, 1990, Sutherland, 2001). La composition générale de l'EPS bactérien comprend des polysaccharides, des protéines, des acides nucléiques, des lipides, phospholipides et des substances organiques (Sutherland, 2001). Selon (Tsuneda *et al.* (2003), es protéines et les polysaccharides comptent pour 75–89 % de la composition des EPS du biofilm, indiquant qu'ils sont les principaux composants.

I.4. Rôle des EPS dans la consolidation du biofilm bactérien

La matrice d'EPS sert d'abord d'obstacle dans lequel le transport par diffusion l'emporte sur le transport par convection (Sutherland, 2001) . Une caractéristique souvent attribuée aux EPS est leur effet protecteur général sur les micro-organismes du biofilm contre les conditions défavorables. Par exemple, il a souvent été observé que les cellules du biofilm peuvent tolérer des concentrations élevées de biocides (Simões *et al.*, 2006, Mah and O'toole, 2001). L'acquisition de cette forte résistance des bactéries contenues dans les biofilms est censée être principalement due aux caractéristiques physiologiques des bactéries dans le biofilm, mais également à la fonction de barrière des EPS (Simões *et al.*, 2006). La matrice d'EPS retarde ou empêche les agents antimicrobiens d'atteindre leurs cibles (micro-organismes) dans le biofilm par limitation de la diffusion et/ou interaction chimique avec les protéines extracellulaires et les polysaccharides (Heinzel, 1998, Mah and O'toole, 2001). En outre, dans la matrice polysaccharidique, les molécules requises pour la communication intercellulaire doivent s'accumuler à des concentrations suffisamment élevées pour être efficaces (Pearson *et al.*, 1999, Sutherland, 2001).

I.5. Communication intercellulaire

La force motrice dans le développement communautaire bactérien est l'auto-organisation et la coopération entre les cellules (Daniels *et al.*, 2004, Davies *et al.*, 1998, Fuqua and Greenberg, 2002, Parsek and Greenberg, 2005). Ce concept apparaît particulièrement lors de l'examen des communautés bactériennes dans un biofilm (Parsek and Greenberg, 2005, Surette *et al.*, 1999). La signalisation intercellulaire joue un rôle dans l'adhésion et le détachement des biofilms (Daniels *et al.*, 2004, Donlan and Costerton, 2002). Les bactéries sont considérées comme étant des microorganismes vivant au sein d'une communauté. Les bactéries ne sont pas des organismes solitaires. Elles sont par nature des organismes colonisateurs des surfaces. Elles exploitent et élaborent des systèmes d'interactions intercellulaires et de communication qui facilitent leur adaptation et leur évolution dans des environnements plus ou moins complexes (Davies *et al.*, 1998, Fuqua and Greenberg, 2002, Sauer and Camper, 2001). Le succès de l'adaptation des bactéries à l'évolution des conditions naturelles dépend de leur capacité à pressentir et à répondre à des

conditions externes de l'environnement et moduler leur expression génétique en conséquence (Daniels et al., 2004). Le quorum sensing est basé sur le processus d'auto-induction (Eberhard et al., 1981). Le processus du quorum sensing fournit un mécanisme pour l'auto-organisation et la régulation des cellules microbiennes (Parsek and Greenberg, 2005) .

Les bactéries produisent des signaux organiques diffusibles, appelé initialement molécule auto-inductrice (AI), qui s'accumule dans le milieu environnant pendant la croissance (Fuqua and Greenberg, 2002) . Une forte densité cellulaire est le résultat d'une concentration élevée de ce signal. Cela induit l'expression de certains gènes et/ou des changements physiologiques dans les cellules voisines (Fuqua et al., 1996, Parsek and Greenberg, 2005). Les auteurs parlent également de « concentration seuil critique » de la molécule de signal qui doit être atteinte avant qu'une réponse physiologique ne soit obtenue (Decho, 1999).

CHAPITRE III : APPLICATION DE LA PHYSICO-CHEMIE DES SURFACES DANS L'ETUDE DE L'ADHESION DES MICROORGANISMES

Résumé

Le présent chapitre va s'intéresser à l'étude de l'adhésion d'un point de vue purement physico-chimique. Dans cette partie, nous allons rappeler les mécanismes d'adhésion microbienne à une surface inerte. Ensuite, nous allons décrire l'ensemble des forces d'adhésion qui s'exercent entre une particule sphérique et une surface plane. Nous allons aussi présenter les différentes expressions théoriques de ces forces. L'objectif visé dans cet état de l'art est de montrer les théories qui ont étudié le phénomène d'adhésion de point de vue physico-chimique.

INDRODUCTION

L'adhésion d'un microorganisme sur une surface solide est un processus complexe qui implique deux surfaces dont l'une au moins est de nature biologique. La diversité des acteurs impliqués et les différents types d'interactions matériau/surface microbienne, qu'elles soient spécifiques ou non spécifiques, compliquent encore plus l'analyse et l'interprétation des données. Mais il faut garder à l'esprit que les interactions spécifiques et non spécifiques résultent des mêmes interactions physico-chimiques fondamentales. Dans le cas des interactions spécifiques, seules les forces entre des groupements très localisés à la surface des corps en présence sont prises en compte. Au contraire, pour les interactions non spécifiques, on s'intéresse aux forces intégrées sur l'entière surface des corps. Le recours aux deux approches complémentaires, physico-chimie et biologie, est essentiel pour cerner les différents aspects du problème et mieux appréhender l'ensemble des mécanismes qui ont lieu aux interfaces.

Dans l'approche physico-chimique « pure », on ne dissocie pas le vivant des autres matériaux.

Les cellules sont identifiées comme des particules colloïdales idéales, sphériques et rigides, avec une surface parfaitement définie et uniforme. Les modèles les plus simples ne prennent en compte que les interactions non spécifiques. A noter toutefois que les évolutions actuelles ont tendance à considérer les spécificités des microorganismes (présence de flagelles, pili, macromolécules adsorbées). Selon l'approche physico-chimique, le processus d'adhésion est le résultat des interactions intermoléculaires s'établissant entre les surfaces du microorganisme et du support ; avec de manière détaillée :

- Les interactions de type électrostatique ;
- Les interactions liées aux forces de van der Waals ;
- Et enfin les interactions polaires (hydrophiles/hydrophobes).

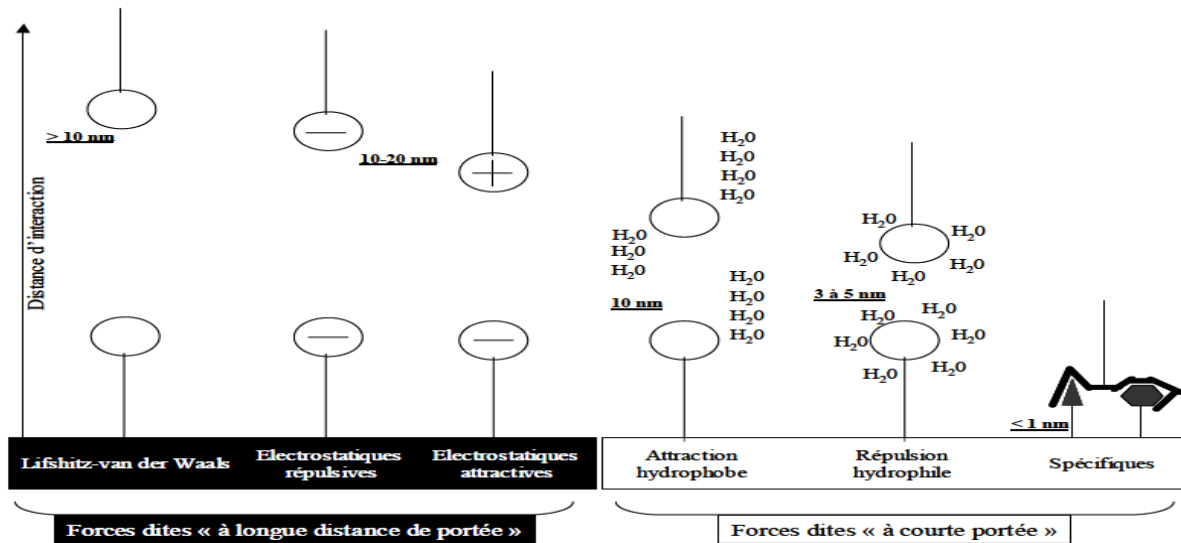


Figure 3: Schéma descriptif des interactions pouvant s'établir entre deux corps et distances pour lesquelles ces interactions sont significatives.

De façon à comprendre l'adhésion d'un microorganisme sur une surface, il est nécessaire de prendre en compte ces différents types d'interactions ainsi que leur évolution en fonction de la distance de séparation des corps considérés.

La physico-chimie des surfaces fournit trois approches permettant de prédire l'adhésion d'un microorganisme sur une surface solide :

- La théorie de la stabilité de l'état colloïdal, encore appelée théorie DLVO, formulée par (Derjaguin and Landau, 1941), et Verwey (1947);
- La théorie du mouillage donnée par la thermodynamique des surfaces ;
- La théorie DLVO étendue par van Oss et ses collaborateurs (Van Oss et al., 1986). Après un rappel sur les forces intermoléculaires, nous présenterons les principes et les éventuelles limitations de ces trois modèles théoriques.

I. Mécanismes d'adhésion bactérienne à une surface inerte

L'adhésion est la capacité que possèdent certains microorganismes à se fixer à des surfaces de natures variées : corps solide, cellule animale ou végétale. Ce phénomène est dû à deux types d'interactions :

- Les interactions spécifiques qui peuvent exister entre deux microorganismes ou entre un microorganisme et une surface biologique. Ces interactions impliquent l'intervention des structures polysaccharidiques des adhésines, des pilis ou des protéines de surface. Ces interactions spécifiques ne sont possibles que si la distance entre les deux corps est inférieure à 1,5 nm (Busscher and Weerkamp, 1987).
- Les interactions non spécifiques, ce sont des interactions physico-chimiques qui interviennent entre les cellules microbiennes et le substrat et qui dépendent des

propriétés physico-chimiques présentées par chaque corps : charge électrostatique, hydrophobicité et caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons (Busscher et al., 1984). Les interactions physico-chimiques comprennent : les interactions électrostatiques, les interactions de Van der Waals, et les interactions acido-basiques (Van Oss, 1996).

Dans la littérature, certains chercheurs ont tenté de décrire le processus d'adhésion de manière rationnelle en utilisant des principes de la physique et de la chimie. Le processus d'adhésion a été décrit principalement via la théorie des systèmes colloïdaux. Bien que dans certains cas, les bactéries se comportent comme de petites particules, elles demeurent des organismes vivants, dont la forme et les propriétés de surfaces sont a priori complexes. Les vraies particules colloïdales se déplacent grâce à l'application de forces externes. Cela n'est pas nécessairement le cas pour les bactéries, car pour certaines d'une manière générale, l'énergie de surface est la propriété physico-chimique la plus importante d'une surface solide. Quand une surface est mise en contact direct avec une solution, les molécules et les atomes de cette surface interagissent avec les composés contenus dans la solution et le type des forces, ou d'interactions, dépend de la composition chimique des deux milieux. D'après Asther et al. (1990), l'adhésion des micro-organismes sur des surfaces chimiquement inertes relève de la physico-chimie et peut être prévue par des modèles thermodynamiques que nous traiterons dans ce chapitre.

II. Forces d'interactions

Dans cette partie, nous allons décrire les différentes forces d'interactions qui conditionnent l'adhésion microbienne aux surfaces. La figure 4 présente une représentation schématique des différentes interactions possibles entre un microorganisme et une surface solide et les distances pour lesquelles ces forces sont significatives.

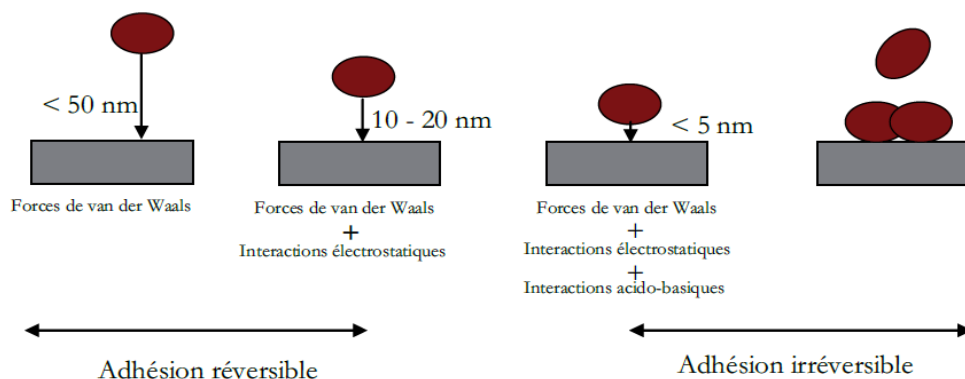


Figure 4: Adhésion d'un microorganisme : interaction bactérie-surface support en fonction de leur distance de séparation (Fletcher, 1996).

II.1. Interactions électrostatiques

Dès que les corps sont plongés dans un milieu aqueux, des forces électrostatiques apparaissent, sous l'effet de charges électriques surfaciques, liées à deux phénomènes principaux (Israelachvili and Ninham, 1977):

- (i) l'ionisation ou la dissociation des groupements fonctionnels de surface ; par exemple, la dissociation d'un proton à partir des groupements SiOH à la surface du verre, (*i.e.* $\text{SiOH} \rightarrow \text{SiO}^- + \text{H}^+$), produit une charge de surface négative ;
- (ii) l'adsorption d'ions (cations ou anions) contenus dans la solution aqueuse.

Quel que soit le mécanisme conduisant à l'apparition des charges de surface, ces dernières confèrent à la surface un potentiel de surface Ψ_0 . La présence de ces charges de surface influence la distribution spatiale des ions contenus dans la solution.

Les ions de charge opposée (contre-ions) sont attirés par la surface, et ceux de charge identique (co-ions) sont repoussés loin de l'interface. Cet excès de contre-ions est maximal à la surface puis diminue progressivement lorsque l'on s'éloigne de cette surface et ce, jusqu'à ce que l'équilibre ionique de la phase aqueuse soit retrouvé (Figure 5).

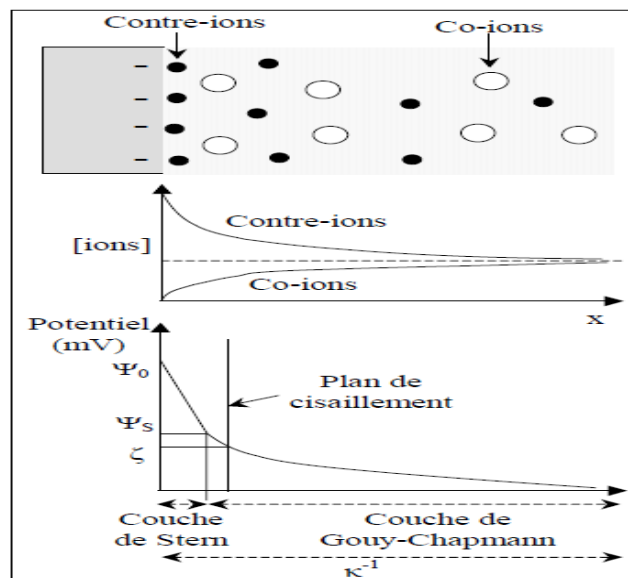


Figure 5: Double couche électrique au voisinage d'une surface chargée.

Cet excès de contre-ions forme ce que l'on appelle la double couche ionique. Elle est constituée (figure 5) :

- (i) d'une région interne, la couche de Stern, formée d'ions fortement adsorbés sur la surface : son épaisseur est environ égale au diamètre moyen des ions hydratés adsorbés ;

(ii) au-delà de cette couche, on trouve la couche diffuse de Gouy-Chapmann qui correspond à l'atténuation progressive de l'excès de contre-ions, jusqu'à ce que l'équilibre ionique de la phase aqueuse soit retrouvé.

Lorsque particule et surface solide s'approchent l'une de l'autre, il s'exerce une interaction électrostatique, liée au recouvrement de leurs doubles couches respectives. Cette interaction est répulsive si les deux surfaces portent des groupements chargés de même signe et attractive dans le cas contraire. L'épaisseur de la double couche, κ^{-1} , est inversement proportionnelle à la force ionique du milieu (concentration en ions de la phase aqueuse et valence de ces ions).

Le pH du milieu, par son influence sur le nombre de groupements dissociés présents en surface, intervient également dans l'intensité des forces d'interaction électrostatiques.

Du fait de l'adsorption de contre-ions sur la surface chargée, le potentiel de surface Ψ_0 chute jusqu'à Ψ_S dans la couche de Stern (figure 5). Dans la couche diffuse, ce potentiel décroît plus lentement jusqu'à devenir nul. Si l'on provoque un mouvement relatif de la phase aqueuse par rapport à la surface, il apparaît un plan de cisaillement, situé dans la couche diffuse, au voisinage de la couche de Stern. On appelle potentiel zêta ζ le potentiel au plan de cisaillement. Il est inférieur à Ψ_S et n'est pas équivalent au potentiel de surface Ψ_0 (James, 1991) (figure 5).

Le potentiel zêta peut être déterminé par des méthodes électrocinétiques, comme la mesure de la mobilité électrophorétique ou du potentiel d'écoulement.

II.2. Interactions non électrostatiques

II.2.1. Interactions polaires liées aux forces de van der Waals

Les forces de van der Waals sont des forces d'attraction ou de répulsion entre deux ou plusieurs molécules. Elles sont universelles et interviennent quels que soient les corps considérés. Celles-ci se distinguent des liaisons chimiques par le fait qu'elles ne sont pas assez fortes pour donner lieu à des structures géométriques définies ; elles ne donnent lieu qu'à des édifices de dimensions variables, qui se font et se défont en permanence.

Les forces de van der Waals résultent des interactions électriques entre molécules globalement neutres. Elles sont dues à l'interaction des électrons d'une molécule avec les noyaux des molécules voisines. Elles résultent de trois effets physiques différents.

a. Interaction de Keesom entre dipôles

Il s'agit d'une attraction entre deux molécules polaires, c'est-à-dire d'une interaction dipôle-dipôle (Keesom, 1921). Le champ d'un dipôle tend à orienter les autres. Cet effet d'orientation se traduit par l'existence d'une énergie potentielle entre molécules.

b. Interaction de Debye entre dipôle et dipôle induit

Une molécule non polaire, placée dans un champ électrique créé par une molécule polaire, se polarise et acquiert un moment dipolaire induit (Debye, 1920). Ce moment dipolaire est proportionnel d'une part au champ électrique créé par la molécule polaire, et d'autre part à une grandeur caractéristique de la molécule non polaire, sa « polarisabilité ». La « polarisabilité » d'une molécule croît avec les dimensions de celle-ci.

c. Interaction de London (ou de dispersion) entre dipôles induits

Même en l'absence de molécules polaires, il subsiste des interactions moléculaires très faibles appelées forces de London. Par suite des fluctuations de la position de ses électrons, la configuration électronique d'une molécule change continuellement. Une molécule quelconque présente donc, à certains instants, un moment dipolaire instantané, capable de créer un champ électrique et faire apparaître des dipôles induits en phase dans les molécules voisines (London, 1930). Les forces de Keesom et Debye sont négligeables en milieu aqueux et seules les forces de London subsistent. Ces dernières sont communément nommées forces de Lifshitz-van der Waals.

II.2.2. Interactions polaires

Les interactions polaires sont des interactions que l'on trouve en milieu aqueux et qui sont liées à la capacité de l'eau à former des liaisons hydrogène.

a. Liaison hydrogène

A proximité des surfaces solides, les molécules d'eau s'organisent en une structure quasi cristalline. Il en résulte la création de liaisons hydrogène entre :

- (i) les atomes électronégatifs des surfaces (O, Cl, F, N) et les atomes d'hydrogène de la molécule d'eau ;
- (ii) ou entre les atomes d'hydrogène des surfaces et l'atome d'oxygène de la molécule d'eau.

Un composé donné (molécule, macromolécule, particule, surface) peut être hydrophile, c'est-à-dire capable d'intervenir dans des liaisons hydrogène, ou hydrophobe, c'est-à-dire incapable d'intervenir dans les liaisons hydrogène. Il existe différents degrés dans ce caractère, qui se traduit par l'existence d'interactions hydrophiles et hydrophobes plus ou moins marquées.

b. Répulsion hydrophile

Dans le cas de surfaces polaires ou chargées, les groupements fonctionnels de la surface deviennent hydratés : ils s'associent avec les molécules d'eau par des liaisons hydrogène.

L'interaction entre deux surfaces hydratées est une interaction répulsive. En effet, l'affinité de chacune de ces surfaces pour l'eau se traduit par l'existence d'une couche d'eau liée à la

surface et organisée en réseau. Or, pour parvenir à un contact rapproché des deux surfaces, il est nécessaire que celles-ci libèrent les molécules d'eau associées en fournissant de l'énergie.

Il en résulte une énergie de répulsion hydrophile, ΔG^{AB} , positive. Cette répulsion hydrophile est fonction de la nature des particules et de leur distance de séparation d . Elle varie avec d selon une loi exponentielle et est effective à des distances de l'ordre de 3 à 5 nm.

Selon la théorie développée par (Van Oss, 1996), dans le cas de particules hydrophiles, il est possible de distinguer celles qui ont des propriétés de surface acides (c'est-à-dire accepteurs d'électrons) ou basiques (donneurs d'électrons) au sens de Lewis. Une répulsion hydrophile aura lieu entre deux corps de « nature » identique au sens de Lewis.

c. Attraction hydrophobe

Dans le cas où une surface solide ne porte pas de groupements fonctionnels ioniques ou polaires, ni de sites adéquats pour la formation de liaisons hydrogène, cette surface est inerte vis-à-vis de l'eau et est donc hydrophobe. Les molécules d'eau se trouvant à proximité de cette surface ont tendance à s'en éloigner pour s'entourer d'autres molécules d'eau. Dans le cas où ces molécules sont confinées entre deux surfaces hydrophobes, leur mouvement moyen en direction de la solution aqueuse favorise le rapprochement des surfaces. L'énergie d'attraction hydrophobe qui en résulte, ΔG^{AB} , est négative. Cette attraction hydrophobe est également fonction de la nature des particules et de leur distance de séparation d . Elle varie avec d selon une loi exponentielle et est effective à partir de distances de l'ordre de 10 nm.

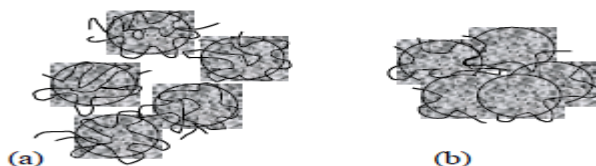


Figure 6 : Interactions stériques dues à la présence de chaînes de polymères adsorbées sur deux particules. (a) répulsion : la densité surfacique est élevée, la répulsion stérique est dominante. (b) attraction : la densité surfacique des polymères adsorbés est faible et les chaînes sont suffisamment longues pour s'adsorber simultanément sur plusieurs surfaces, générant ainsi une attraction par pontage.

d. Interactions stériques

Ces interactions interviennent dans le cas d'un milieu où des macromolécules sont présentes, ce qui se rapproche de la réalité biologique. La présence d'une couche adsorbée de polymères ou de tensioactifs sur les surfaces considérées peut influencer l'ensemble des interactions précédemment décrite en modifiant leur charge de surface ou leur affinité vis-à-vis de l'eau par exemple.

En outre, l'adsorption de ces macromolécules sur les surfaces peut conduire à un encombrement stérique qui empêche les objets de se rapprocher trop près les uns des autres (Figure 6 (a)). Le potentiel d'interaction qui en résulte dépend à la fois de la densité des macromolécules adsorbées et de la longueur des chaînes. L'interaction qui en résulte est *a priori* répulsive (figure 6 (a)) mais peut devenir attractive par accrochage des polymères sur les deux objets (figure 6 (b)). On parle alors de pontage.

III. Théories

Il existe à l'origine deux approches, initialement considérées comme distinctes, de l'adhésion des microorganismes aux surfaces :

- La théorie DLVO prend en compte les interactions électrostatiques ainsi que les interactions de Lifshitz-van der Waals ;
- L'approche thermodynamique ne prend en compte que les interactions non électrostatiques.

Ces deux théories ont été réconciliées par van Oss et ses collaborateurs (Van Oss et al., 1986) au sein de la théorie DLVO étendue qui prend en compte les trois types d'interaction fondamentales (Lifshitz-van der Waals, acide-base de Lewis et électrostatiques).

III.1. Théorie DLVO appliquée à l'étude de l'adhésion des microorganismes

La théorie DLVO, première théorie concernant la stabilité de l'état colloïdal, doit son nom aux auteurs qui l'ont développée indépendamment : Derjaguin et Landau (1941), et Verwey (1947).

Selon ces auteurs, une particule qui s'approche à une certaine distance d'une surface donnée va interagir avec cette surface par des forces de type van der Waals ou électrostatiques. Cette théorie est très largement utilisée pour rendre compte des phénomènes de floculation, d'agglomération ou de coagulation des systèmes colloïdaux. Elle permet donc de prévoir la probabilité qu'a la particule de se situer à une certaine distance de la surface considérée.

Il est possible de distinguer deux types d'adhésion :

- L'adhésion de minimum secondaire, c'est-à-dire une adhésion réversible qui laisse à la particule un mouvement brownien dans un plan ;
- L'adhésion de minimum primaire, irréversible. Dans ce cas, il n'y a plus aucun degré de liberté.

Cette théorie fournit une bonne description du comportement de particules colloïdales mais ne prend pas en compte les interactions intermoléculaires à courte portée. En effet, à des distances aussi faibles, d'autres types d'interactions telles que les liaisons hydrogène sont prépondérantes et déterminent la force d'adhésion au niveau du minimum primaire que la théorie DLVO ne prévoit pas.

Cette théorie peut toutefois être appliquée pour prévoir l'adhésion des microorganismes aux surfaces, sachant que les microorganismes sont loin d'être des particules idéales. Ils n'ont ni géométrie simple, ni composition moléculaire uniforme, et sont donc difficilement « modélisables ». On peut cependant les assimiler à des colloïdes lorsque leur taille est voisine de 1µm. Pour des microorganismes de taille supérieure (par exemple les levures) l'application de la théorie DLVO reste sujette à discussion. Cependant, en acceptant quelques approximations, les interactions entre microorganisme et surface solide peuvent être décrites par la théorie DLVO exposée ci-dessus (Marshall, 1985).

Selon cette théorie, l'adhésion microbienne est donc le résultat d'un équilibre s'établissant entre les forces de van der Waals et les forces électrostatiques. L'énergie libre d'interaction totale, ΔG^{TOT} entre le microorganisme et le support, séparés d'une distance d , est la somme des énergies libres liées aux interactions attractives de van der Waals, ΔG^{LW} , et aux interactions électrostatiques, ΔG^{EL} . Cette énergie est modulée par la force ionique du milieu et décroît avec la distance d de séparation entre les corps. ΔG^{TOT} peut être calculée sur la base des expressions théoriques de ΔG^{LW} et ΔG^{EL} .

Ainsi, pour une particule sphérique immergée dans un solvant à proximité d'un support, les interactions de Lifshitz-van der Waals vont intervenir entre la surface de la particule et le solvant, entre la surface du support et le solvant et entre la surface de la particule et la surface du support, à la condition d'une distance particule/support suffisamment faible.

L'énergie d'interaction liée à ces forces de Lifshitz-van der Waals, notée ΔG^{LW} , entre une sphère de rayon a et une plaque semi-infinie, séparées d'une distance d s'écrit (Equation 1) :

$$\Delta G^{\text{LW}} = -\frac{A}{6} \left[\frac{a}{d} + \frac{a}{d+2a} + \ln \left(\frac{d}{d+2a} \right) \right] \quad \text{Equation 1}$$

Avec A : constante de Hamaker (J)

a : rayon de la sphère (m)

d : distance entre la sphère et la plaque (m)

ΔG^{LW} est fonction de la nature de la particule, du solvant et du support, de leur géométrie et de la distance de séparation entre les corps. Elle est exprimée en mJ/m².

Dans le cas de deux particules identiques en interaction, les forces de Lifshitz-van der Waals sont généralement attractives ($\Delta G^{\text{LW}} < 0$). Elles sont maximales au contact puis diminuent quand la distance entre les particules augmente. Elles restent effectives à des distances de l'ordre de 10 nm.

L'énergie d'interaction électrostatique, notée ΔG^{EL} et associée à ces interactions, est fonction de la charge portée par les particules, de leur géométrie, de leur distance de

séparation d et de la force ionique du milieu. La force ionique du milieu a deux effets souvent couplés :

- Une diminution du potentiel dans la couche de Stern, d'autant plus importante que la force ionique du milieu est forte et que la valence des ions est élevée ;
- Une diminution de l'épaisseur de la double couche.

Les interactions électrostatiques diminuent donc fortement quand la force ionique du milieu augmente. L'énergie libre d'interaction entre une sphère de rayon a (de potentiel zéta ζ_1) et une plaque semi-infinie (de potentiel zéta ζ_2), séparées d'une distance d , s'écrit (Equation 2) :

$$\Delta G^{EL} = \frac{\pi \varepsilon a (\zeta_1^2 + \zeta_2^2)}{1} \cdot \left[\frac{2 \zeta_1 \zeta_2}{\zeta_1^2 + \zeta_2^2} \ln \frac{1 + \exp(-\kappa d)}{1 - \exp(-\kappa d)} + \ln(1 - \exp(-2\kappa d)) \right] \quad \text{Equation 2}$$

$$\kappa = \sqrt{\frac{e^2}{\varepsilon B T} \cdot \sum_i z_i^2 n_i}$$

Avec

ε : permittivité du milieu ($6,96 \cdot 10^{-10} \text{ J.m}^{-1} \cdot \text{V}^{-2}$ pour l'eau)

e : charge des électrons ($1,6021 \cdot 10^{-19} \text{ C}$)

B : constante de Boltzmann ($1,3807 \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$)

T : température (K)

z_i : valence des ions

n_i : nombre d'ions par cm^3

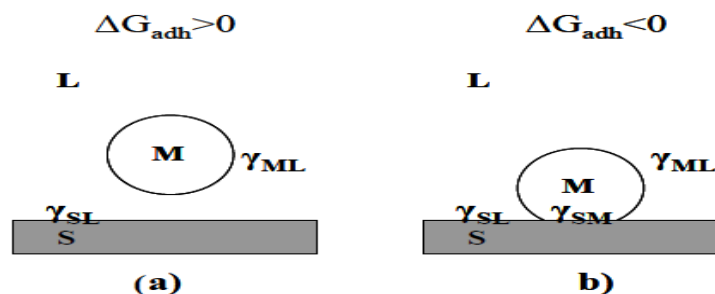


Figure 7: Représentation schématique des énergies interfaciales mises en jeu lors de l'adhésion d'un microorganisme (M) en suspension dans un liquide (L) à un support (S). (a) pas d'adhésion (b) adhésion.

Bien que cette théorie constitue un outil intéressant pour étudier l'adhésion des microorganismes, notamment par la prise en compte des interactions à longue distance, elle a ses limites car il existe parfois des contradictions entre ce qu'elle prévoit et les observations expérimentales (voir, à titre d'illustration, (Dufrêne et al., 1996). Elle prend uniquement en compte les interactions de Lifshitz-Van der Waals et les interactions électrostatiques et néglige les interactions polaires. Cette théorie ne peut donc pas décrire le comportement d'un microorganisme à proximité immédiate d'une surface, notamment en milieu aqueux, où les interactions hydrophiles et hydrophobes sont susceptibles d'être très importantes.

III.2. Thermodynamique des surfaces : application à l'adhésion microbienne

D'après certains auteurs, le phénomène d'adhésion microbienne peut être appréhendé sous un angle strictement thermodynamique (Busscher et al., 1984).

Cette théorie, qui ne prend en compte que les interactions non électrostatiques (*i.e.* Lifshitz Van der Waals et acide-base de Lewis), est basée sur l'équation de Dupré (Dupré and Dupré, 1869) appliquée à un système microorganisme-solide-liquide (milieu de suspension) comme illustré sur la figure 6 (a). L'adhésion du microorganisme sur le support solide correspond à un état d'équilibre. Elle se traduit par la création d'une interface microorganisme-solide et, conjointement, par la destruction des interfaces microorganisme-liquide et solide-liquide (Absolom et al., 1983).

Cette variation peut s'exprimer de la manière suivante :

$$\Delta G_{adh} = \Delta G_{MLS} = \gamma_{MS} - \gamma_{ML} - \gamma_{SL} \quad \text{Equation 3}$$

où γ est l'énergie libre interfaciale, les indices S, M et L étant relatifs au support, au microorganisme et au milieu de suspension, respectivement. Comme pour tous les systèmes présents dans la nature, le système présenté sur la figure 6 va tendre vers un minimum d'énergie libre. En accord avec le second principe de la thermodynamique, l'adhésion microbienne est donc un processus favorisé, d'un point de vue énergétique, si la variation d'énergie libre $\Delta G_{adh} = \Delta G_{MLS}$ qui accompagne ce phénomène est négative ($\Delta G_{adh} < 0$) (figure 6 (b)). Au contraire, si ΔG_{adh} est positif, l'adhésion sera impossible figure 6 (a).

La variation d'énergie libre ΔG_{adh} accompagnant l'adhésion d'un microorganisme sur un support en milieu liquide peut être calculée à partir de la connaissance des énergies libres de surface du milieu de suspension, du solide et du microorganisme.

III.2.1. Calcul des énergies de surface des trois entités (microorganisme, support, milieu de suspension)

D'après van Oss et ses collaborateurs (van Oss et al., 1986), l'expression de l'énergie libre non électrostatique entre un solide (S) et un liquide (L) s'écrit :

$$\Delta G_{SL}^{nonEL} = \Delta G_{SL}^{LW} + \Delta G_{SL}^{AB} \quad \text{Equation 4}$$

$$\text{avec } \Delta G_{SL}^{LW} = -2 \cdot \sqrt{\gamma_S^{LW} \cdot \gamma_L^{LW}}$$

$$\text{avec } \Delta G_{SL}^{AB} = -2 \cdot (\sqrt{\gamma_S^+ \cdot \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \cdot \gamma_L^+})$$

- Avec l'indice S désignant le solide et L le liquide,
- La composante polaire pouvant être décomposée en 2 termes non additifs : une composante donneur d'électrons γ^- et une composante accepteur d'électrons γ^+ .

D'après l'équation de Dupré, nous avons donc :

$$\Delta G_{SL}^{LW} + \Delta G_{SL}^{AB} = \gamma_{SL} - \gamma_S - \gamma_L \quad \text{Equation 5}$$

avec γ_L : tension superficielle du liquide
 γ_S : énergie de surface du solide
 γ_{SL} : énergie interfaciale solide – liquide

En introduisant ici l'équation de Young ($\gamma_{LV} \cdot \cos \theta = \gamma_S - \gamma_{SL} - \pi_e$) et en négligeant la pression d'étalement (π_e), comme préconisé par Van Oss et al. (1986), nous avons :

$$\gamma_{SL} = \gamma_S - \gamma_L \cdot \cos \theta \quad \text{Equation 6}$$

En combinant cette équation aux équations 4 et 5, l'équation de Young-Dupré est obtenue (Equation 7), ce qui permet de déterminer les propriétés de surface du solide (γ_S^+ , γ_S^- , γ_S^{LW}), à partir de la mesure d'angles de contact de ce solide avec des liquides dont on connaît les caractéristiques polaires (γ_L^+ , γ_L^-) et apolaires (γ_L^{LW}).

$$\gamma_L (1 + \cos \theta) = 2 \cdot (\sqrt{\gamma_S^{LW} \cdot \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^+ \cdot \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \cdot \gamma_L^+}) \quad \text{Equation 7}$$

Le même type de raisonnement peut être appliqué au cas d'un microorganisme (M) pour lequel on recherche les composantes d'énergie de surface.

Dans le cas des liquides, la tension superficielle est accessible facilement de manière expérimentale : elle correspond à sa tension de vapeur (Bellon-Fontaine and Vernhet, 1999).

III.2.2. Calcul de ΔG_{adh}

Dans le cas d'un microorganisme (M) en présence d'une surface (S) dans un liquide (L), nous avons vu que l'équation de Dupré s'applique à un système à trois entités selon l'Equation 3. Il est alors possible d'exprimer l'interaction entre le microorganisme et la surface solide immergée dans un liquide, en tenant compte des interactions de Lifshitz-Van der Waals et des interactions polaires (Equation 8) :

$$\Delta G_{MLS} = 2 \cdot [\sqrt{\gamma_M^{LW} \cdot \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^{LW} \cdot \gamma_L^{LW}} - \sqrt{\gamma_M^{LW} \cdot \gamma_S^{LW}} - \gamma_L^{LW} \quad \text{Equation 8}$$

$$+ \sqrt{\gamma_L^+} \cdot (\sqrt{\gamma_M^-} + \sqrt{\gamma_S^-} - \sqrt{\gamma_L^-}) + \sqrt{\gamma_L^-} \cdot (\sqrt{\gamma_M^+} + \sqrt{\gamma_S^+} - \sqrt{\gamma_L^+}) - (\sqrt{\gamma_M^+ \gamma_S^-} - \sqrt{\gamma_M^- \gamma_S^+})]$$

Cette approche thermodynamique décrit une création d'interface mais, dans le cas d'une interaction cellule / matériau, le phénomène n'est pas aussi simple. Il est important de prendre en compte l'intervention de l'environnement cellulaire, ainsi que les autres types d'interactions qui ont lieu. De plus, le phénomène est ici considéré comme totalement réversible, ce qui ne correspond pas au cas réel.

III.3. Théorie DLVO étendue

La théorie DLVO a été étendue par Van Oss et al. (1986) afin de prendre en compte les interactions polaires. Cette théorie considère ainsi que les interactions de Lifshitz-van der Waals, les interactions électrostatiques et les interactions acide-base de Lewis sont les trois interactions fondamentales impliquées dans les phénomènes d'adhésion des microorganismes aux supports. Comme évoqué précédemment, les interactions acide-base sont dues aux caractères électron-donneur et électron-accepteur des espèces polaires en solution.

Selon ce modèle (Van Oss et al., 1986), l'énergie libre d'interaction totale, ΔG^{TOT} entre deux corps, séparés d'une distance d , s'écrit donc (Equation 9).

$$\Delta G^{\text{TOT}} = \Delta G^{\text{EL}} + \Delta G^{\text{nonEL}} = \Delta G^{\text{EL}} + \Delta G^{\text{LW}} + \Delta G^{\text{AB}} \quad \text{Equation 9}$$

IV. Facteurs influençant l'adhésion bactérienne

Tout comme pour l'adsorption de molécules organiques, de nombreux facteurs peuvent influencer l'adhésion bactérienne par modification des caractéristiques du microorganisme ou de la surface solide. Nous présentons une liste non exhaustive des différents paramètres pouvant modifier l'adhésion bactérienne.

IV.1. Facteurs liés au micro-organisme

Chaque famille de micro-organisme possède des propriétés physico-chimiques qui lui sont propres. Toute modification des caractéristiques énergétiques de surface des microorganismes peut entraîner une augmentation ou une diminution de l'adhésion bactérienne (Grivet et al., 2000). Ces derniers ont par exemple mis en évidence que l'adhésion de quatre souches de *Streptococcus* sur des alliages dentaires dépend de leurs caractéristiques énergétiques, la souche la plus hydrophile présentant les plus faibles taux d'adhésion.

Il apparaît que le mode de préparation de la culture bactérienne peut avoir de grandes conséquences sur les propriétés physico-chimiques de surfaces des bactéries (Bruinsma et al., 2001, Hamadi et al., 2008, Pedersen et al., 1986) : Par exemple, la centrifugation des cultures permettant un "lavage" des micro-organismes peut rompre flagelles et pilis, modifiant la composition de surface des micro-organismes et par conséquent les caractéristiques énergétiques de surface de la bactérie. La disparition des flagelles et des pili peut perturber l'adhésion, ces organites ayant un rôle très important dans les premières phases d'adhésion en permettant le déplacement vers la surface et le passage du minimum secondaire (Vatanyoopaisarn et al., 2000, O'toole and Kolter, 1998).

IV.2. Facteurs liés à la surface solide

Pour étudier l'adhésion bactérienne sur les matériaux, il est important de prendre en compte le type de métal ou de matériau, l'hydrophobicité, la rugosité de surface, les procédures de nettoyage (Boulané-Petermann, 1996) et la présence ou non d'un film organique. Une surface possède des imperfections (anfractuosités) dues au mode de préparation employé lors de l'usinage des matériaux. Les bactéries en se logeant dans ces imperfections peuvent alors être protégées des agressions extérieures (nettoyant-désinfectant, ultrasons) (Boulané-Petermann, 1996).

IV.2.1. Caractéristiques énergétiques des surfaces solides

Les caractéristiques énergétiques des surfaces solides interviennent dans les phénomènes de l'adhésion bactérienne (Bellon-Fontaine et al., 1990). Selon les caractéristiques énergétiques (hydrophobicité, l'énergie de surface...) de la surface solide étudiée, l'adhésion microbienne peut être augmentée ou diminuée, d'une part et d'autre part, la répartition des cellules adhérentes aux surfaces solides peut être différente (Van Pelt et al., 1985)

Selon (Boulané-Petermann, 1996, Ong et al., 1999), la composition chimique de la surface solide étudiée (chrome, fer, nickel, cuivre, verre), les différents types de matériaux présentant des caractéristiques physico-chimiques dissemblables, peut conduire à d'importantes différences d'adhésion bactérienne.

Aussi, de façon générale, il est admis que les micro-organismes hydrophobes adhèrent fortement sur des matériaux hydrophobes alors que ceux hydrophiles adhèrent plus fortement sur des matériaux hydrophiles (Humphries et al., 1987, Boulange-Petermann et al., 1993, Ong et al., 1999, Briandet et al., 2001).

De plus, plusieurs études ont montré que les caractéristiques énergétiques de surface des échantillons dépendent de plusieurs facteurs :

- Le mode de nettoyage des surfaces solides, en modifiant les caractéristiques énergétiques d'échantillons d'acier inoxydable AISI 304, les rendant plus ou moins hydrophobes, influence l'adhésion de *Streptococcus thermophilus* (Boulange-Petermann et al., 1993).
- L'adsorption d'ions ferriques sur des échantillons d'acier inoxydable AISI 304 (Briandet et al., 2001), d'ions calcium et de cuivre ou de TBT sur des échantillons d'acier inoxydable AISI 316 (Tang and Cooney, 1998) ou d'argent sur des échantillons de polyuréthane (Jansen and Kohnen, 1995) va, en modifiant les propriétés de surface du matériau, provoquer soit la diminution soit l'augmentation de l'adhésion bactérienne.
- L'adsorption de composés organiques sur la surface solide entraîne sa modification physico-chimique. Ce film organique masque en partie ou totalement les propriétés

initiales de la surface (Rubio, 2002, Baier, 1970) et augmente l'adhésion (Bradshaw et al., 1997) ou au contraire la diminue (Fletcher, 1996, Pratt-Terpstra et al., 1987).

IV.2.2. Rugosité des surfaces solides

Plusieurs études (Pedersen et al., 1986, Leclercq-Perlat and Lalande, 1994, Teixeira et al., 2005) ont rapporté que la rugosité influence l'adhésion bactérienne aux surfaces d'une manière direct. (Hilbert et al., 2003) ont rapporté aussi que la rugosité des matériaux influence l'adhésion au-dessus d'une valeur de rugosité moyenne de $0,9\mu\text{m}$. D'autres auteurs (Scheuerman et al., 1998) ont affirmé qu'au-dessus de $10\mu\text{m}$, la rugosité n'a pas d'effet sur l'adhésion. Il apparaît alors que pour que la rugosité influence l'adhésion des micro-organismes, la valeur de la rugosité moyenne du support doit être de l'ordre de grandeur du diamètre de l'élément biologique étudié. Kouider et al. (2010) ont montré que *S. aureus* est capable d'adhérer à l'acier inoxydable pour une série de rugosité passant de $0,025\mu\text{m}$ à $3,2\mu\text{m}$. Ils ont montré que l'adhésion dépend largement de la valeur de la rugosité avec un maximum à $R_a = 0,025\mu\text{m}$ et un minimum à $R_a = 0,8\mu\text{m}$. (Boulangé-Petermann et al., 1997) ont montré que l'augmentation de la rugosité d'une surface d'acier inoxydable AISI 304 de $0,01$ à $1\mu\text{m}$ n'avait pas de conséquences sur l'adhésion de *Streptococcus thermophilus* ; conclusion identique à celle de Jansen and Kohnen (1995) sur des échantillons de polyuréthane dont la rugosité est comprise entre $0,4$ et $1,4\mu\text{m}$. Scheuerman et al. (1998) ont conclu que la présence d'anfractuosités augmentait la quantité de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* adhérents sur des échantillons de silicone, mais qu'une rugosité supérieure à $10\mu\text{m}$ n'avait aucun effet supplémentaire.

Le conditionnement par des molécules organiques ne semble cependant pas éliminer l'adhésion bactérienne (Baier, 1970). Ainsi, (Garry, 1997) a mis en évidence que l'encrassement de bandes convoyeuses en polyuréthane par du jus de jambon augmentait l'adhésion et la survie de *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* alors que d'autres auteurs ont observé une diminution de l'adhésion de *Pseudomonas fragi* ou de *Staphylococcus aureus* respectivement sur des échantillons d'acier inoxydable, de chrome et de polyuréthane recouvert d'un film de SAB (Rubio, 2002). De même le conditionnement d'échantillons de silicone par le biosurfactant produit par *Streptococcus thermophilus* inhibe l'adhésion de *Candida albicans* (Busscher et al., 1997). De façon générale, cette nouvelle interface, en modifiant la rugosité et les propriétés physico-chimiques du substrat, va devenir un des acteurs de l'adhésion bactérienne, le micro-organisme se lie au film conditionnant si les interactions sont assez fortes (Bellon-Fontaine and Cerf, 1991).

IV.2.3. Nettoyage et désinfection des surfaces

Les traitements de nettoyage et désinfection des surfaces ont un effet sur la charge et l'énergie de surface du support (Boulangé-Petermann et al., 1997, Boulané-Petermann, 1996). Selon les produits utilisés pour le nettoyage et la désinfection des surfaces (produits acides, basiques, ...), ces derniers peuvent être plus ou moins chargés et possèdent des énergies de

surface différentes, engendrant ainsi une adhésion différente du micro-organisme. Le nettoyage et la désinfection de l'acier avec un mélange HF/HNO₃ dissout la couche d'oxydes du matériau. Dès que le matériau est exposé à l'air, il se recouvre à nouveau d'oxydes. Selon le temps d'exposition à l'air, la couche d'oxydes ne possède pas les mêmes propriétés et peut donc influencer l'adhésion.

IV.3. Facteurs liés au milieu environnant

La composition du milieu suspendant peut aussi avoir une influence sur l'adhésion bactérienne ; pH et force ionique en modifiant les composantes électrostatiques de la surface du micro-organisme (Bunt et al., 1995, Briand et al., 1999b, Hamadi et al., 2004) vont conduire à une adhésion différente des bactéries sur les supports solides (Stanley, 1983, Pembrey et al., 1999, Jana et al., 1999). Cependant, (Peng et al., 2001) ont présenté des résultats contradictoires où le taux d'adhésion ne varie pas en fonction du milieu suspendant.

Les propriétés physico-chimiques de la surface bactérienne peuvent être aussi affectée par la température de croissance (Briand et al., 1999b) et par l'aération du milieu de culture (Aguilar-Uscanga and Francois, 2003). De même, la composition du milieu de culture peut modifier les propriétés de la surface cellulaire (Abdallah et al., 2014).

CONCLUSION

Nous venons de décrire l'ensemble des forces d'adhésion qui s'exercent entre une particule sphérique et une surface plane. Pour des particules de petite taille, ces forces d'adhésion peuvent être 10⁶ fois supérieures à la force de gravité (Visser, 1976). Il est donc nécessaire de les caractériser. Mais les expressions théoriques de ces forces d'adhésion ne sont obtenues que pour des systèmes géométriques simplifiés.

Par ailleurs, il existe parfois des contradictions entre ce que prévoient ces théories et les observations expérimentales. En effet, dans la réalité, l'un, ou les deux corps, se déforme(nt) au contact de l'autre sous l'effet de ces fortes d'interactions moléculaires. Ceci signifie qu'aux interactions moléculaires viennent s'ajouter des déformations et des effets élastiques ou plastiques ; ces derniers sont encore mal connus à l'heure actuelle. De plus, l'existence de forces dynamiques de cisaillement dans la plupart des environnements (par exemple la cavité orale, les rochers ou les coques de bateaux) perturbe le contact initial entre le microorganisme et le support d'adhésion. Mais c'est de l'intensité de cette adhésion initiale que dépend la solidité d'attachement du biofilm entier, elle est donc déterminante.

La physico-chimie est un outil essentiel pour comprendre le comportement microbien mais ne peut être appréhendée seule car elle ignore certains processus propres au vivant. Une bonne compréhension du phénomène d'adhésion microbienne à un matériau doit intégrer les données physico-chimiques et les caractéristiques biologiques. De ce fait, l'estimation de ces forces doit se faire également par voie expérimentale.

CHAPITRE IV : MATERIAUX UTILISES EN INDUSTRIES ALIMENTAIRES : CAS DES ACIERS INOXYDABLES

Résumé

Dans ce chapitre, nous nous intéressons aux propriétés des matériaux couramment utilisés dans les agro industries. Une attention particulière sera accordée à l'acier inoxydable que nous avons utilisé au cours de notre étude. Aussi, nous nous intéresserons aux paramètres du matériau qui influencent l'adhésion bactérienne.

INTRODUCTION

La conception des matériaux utilisés pour la fabrication des aliments destinés à la consommation doit respecter des règles d'alimentarité. Dans les industries agroalimentaires la facilité à l'hygiène de ces matériaux est également d'une grande importance afin de limiter la contamination des aliments en contact. Ces matériaux doivent supporter des conditions environnementales potentiellement difficiles comme les fortes pressions, de fortes concentrations de produits alcalins et acides, des températures élevées, tout en restant facilement nettoyables. Les matériaux utilisés pour la production des aliments doivent présenter des qualités telles que : résister à la corrosion, être non toxique, être stable mécaniquement et avoir une finition de surface qui n'est pas affectée défavorablement par le processus de fabrication.

Dans ce chapitre nous ferons un bref bilan sur les matériaux communément utilisés dans les entreprises alimentaires en focalisant nos recherches sur l'acier inoxydable.

I. Matériaux en agroalimentaires

Une variété de matériaux est utilisée dans la construction des équipements en industries agroalimentaires. Ces matériaux varient selon leur exploitabilité, leur compatibilité, et selon les caractéristiques de la conception sanitaire. En fonction des différentes applications, les équipements de fabrication alimentaire sont construits avec de nombreux matériaux différents auxquels les bactéries peuvent adhérer. Nous pouvons citer les plus courants comme l'acier inoxydable, les élastomères et les plastiques.

Des matériaux non-métalliques tels que les élastomères (rubbers) et les plastiques sont en utilisation croissante dans les industries alimentaires et dans les industries de boissons pour des applications spécifiques. Ces matériaux sont par exemple utilisés pour fabriquer des courroies de convoyeurs, des containers, des tapis roulants, des planches de découpage. Des matériaux en plastiques tel que le PMMA sont souvent rencontrés dans des installations de production laitière (Wildbrett and Sauerer, 1989). D'autres matériaux plastiques tels que : l'EPDM (monomère d'éthylène-propylène diène), le NBR (connu sous le nom de Buna-N), le silicone, le fluoro-élastomère, l'EPDM et le NBR sont fréquemment utilisés laitières en tant que matériaux des joints d'étanchéité. Le PTFE (polytetrafluoroéthylène) ne peut cependant être utilisé car il est poreux, moins résistant et perméable (EHEDG, 1993).

II. Aciers inoxydables

Les aciers inoxydables offrent en général une excellente protection contre la corrosion, et ils sont, de fait, largement utilisés en industrie agro-alimentaire. La gamme des aciers inoxydables disponibles est vaste et le choix de la catégorie la plus appropriée dépendra des propriétés corrosives (au regard non seulement des espèces ioniques impliquées, mais également du pH et de la température) du procédé et du nettoyage ainsi que des produits chimiques antimicrobiens. Cependant, le choix sera aussi fonction des contraintes mécaniques auxquelles l'acier sera soumis, et ses aptitudes à l'usinage, au formage et au soudage, de sa dureté et de son coût (EHEDG, 2004).

II.1. Généralités et principales catégories

Parmi les matériaux communément utilisés dans les industries de transformations alimentaires (systèmes ouverts comme les ateliers ou fermés comme les lignes de transformation), l'acier inoxydable qui demeure le matériel de choix, parce que, en plus d'être non seulement résistant à la corrosion aux milieux alcalins et acides, il est extrêmement hygiénique (Boulangé-Petermann et al., 1997). Depuis son invention il y a plus d'un siècle par Monnartz (Monnartz, 1911), ce matériau connaît un taux d'accroissement de plus de 5% par an. L'acier inoxydable est un alliage ferrique contenant environ 1,2% de carbone et au minimum 10,5% de chrome. La surface est recouverte par une couche passive contenant des oxydes de chrome protégeant efficacement contre la corrosion. Cependant, il est recommandé qu'il soit régulièrement passivé (utilisation de l'acide nitrique ou d'agents oxydants à forte concentration), le film passif assurant la protection de la surface contre la corrosion. L'évolution de ce film passif joue un rôle dans l'hygiène de l'acier comme l'ont montré récemment Jullien et al. (2003).

Il existe deux catégories principales d'acier inoxydable :

- Les alliages ferriques ou fer-chrome contenant 12 à 30 % de chrome ;
- Les alliages austénitiques ou fer-chrome-nickel avec 12 à 30 % de chrome et 7 à 30 % de nickel.

L'acier inoxydable austénitique (contenant du nickel) est l'alliage très communément utilisé en industries alimentaires et dans les installations fermées ou ouvertes. La série 300 (fer-chrome-nickel) est recommandée par l'Institut Américain du fer et de l'acier (AISI) pour les surfaces en contact avec les aliments (Sundgren et al., 1985, Hayashi et al., 1989). Ces aciers sont généralement choisis pour leur prix abordable, leur bonne résistance mécanique, leur résistance accrue à la corrosion, leur longévité conséquente mais également pour leur forte résistance à l'abrasion (Holah et al., 1989).

Les spécifications AISI, DIN et EN des aciers inoxydables fréquemment utilisés en industrie agroalimentaire sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Spécifications AISI, NF et EN des aciers inoxydables fréquemment utilisés en industrie agro-alimentaire (EHEDG, 2004).

| Équivalences des désignations | | | | | | | | |
|-------------------------------|---------------------------------|----------------------|-------------|-----------|-----------|----------|-------|------------------|
| EN 10027 (européenne) | Afnor NF A 35573 (France) | AISI (États-Unis) | Composition | | | | | |
| | | | % C | % Cr | % Ni | % Mo | % Mn | Autres |
| X12CrNi18-09 | Z10CN18-09 | 302 | 0,12 | 16 à 18 | 6 à 8 | — | 2 | — |
| X12CrNi18-08 | Z10CNF18-09 | 303 | ≤ 0,12 | 17 à 19 | 8 à 10 | 0,6 | 2 | — |
| X5CrNi18-09 1.4301 | Z7CN18-09 | 304 | 0,05 | 17 à 19 | 8 à 10 | — | 2 | — |
| X2CrNi18-09 1.4307 | Z3CN18-10 | 304 L | 0,02 | 17 à 19 | 9 à 11 | — | 2 | — |
| X5CrNi19-11 1.4303 | Z8CN18-12 | 305 | 0,05 | 17 à 19 | 11 à 13 | — | 2 | — |
| X7CrNi23-14 | Z12CNS25-13 | 309 | 0,07 | 22 à 25 | 11 à 14 | — | 2 | — |
| X12CrNiSi25-20 | Z12CNS25-20 | 310 | 0,12 | 23 à 26 | 18 à 21 | — | 2 | — |
| X5CrNiMo18-10 1.4401 | Z6CND17-11 | 316 | 0,05 | 16 à 18 | 10 à 12,5 | 2 à 2,5 | 2 | — |
| X2CrNiMo18-10 1.4404 | Z2CND17-12 | 316 L | 0,02 | 16 à 18 | 10,5 à 13 | 2 à 2,5 | 2 | — |
| X10CrNiMoTi18-10 1.4571 | Z6CNDT17-12 | 316 Ti | 0,1 | 16 à 18 | 10,5 à 13 | 2 à 2,5 | 2 | Ti. 5 C; Ti. 0,6 |
| X10CrNiTi18-09 1.4541 | Z6CNT18-10 | 321 | 0,1 | 17 à 19 | 10 à 12 | — | 2 | Ti. 5 C; Ti. 0,6 |
| X7Cr13 1.4003 | Z6C13 | 403 | 0,07 | 11,5/13,5 | — | — | 1 | — |
| X10Cr13 1.4006 | Z12C13 | 410 | 0,08/0,15 | 11,5/13,5 | — | — | 1 | — |
| X12CrS13 | Z12CF13 | 416 | 0,08/0,15 | 12 à 14 | 0,5 | 0,15/0,6 | 1,5 | — |
| X20Cr13 1.4021 | Z20C13 | 420 | 0,16-0,25 | 12 | — | — | ≤ 1,5 | — |
| X30Cr13 | Z30C13 | 420 B | 0,3 | 12 à 14 | — | — | 1 | — |
| X6Cr17 1.4016 | Z8C17 | 430 | 0,08 | 16/18 | 0,5 | — | 1 | — |
| X12CrMoS17 | Z10CF17 | 430 F | 0,12 | 16/18 | 0,5 | 0,2/0,6 | 1,5 | — |
| X22CrNi17 1.4057 | Z15CN16-02 | 431 | 0,1/0,2 | 15/17 | 1,5/3 | — | 1 | — |
| X105CrMo17 | Z100CD17 | 440 C | 1 | 17 | — | — | 1 | — |

II.2. Corrosion et passivité des aciers inoxydables

En milieu aqueux ou humide notamment, les métaux et alliages ne sont pas stables. Il suffit pour s'en convaincre d'observer que la très grande majorité des métaux n'existe pas à l'état natif dans la nature mais doit être extraite et élaborée à partir de minerais. Dans ceux-ci, les métaux existent à l'état ionique ou du moins oxydé. La métallurgie s'efforce, par apport d'énergie et de matière, à amener ces ions à l'état métallique. Ce dernier n'étant pas, dans la plupart des cas, stable thermodynamiquement, il aura tendance spontanément à retourner à l'état oxydé. La corrosion correspond à ce retour, dans la mesure où les ions vont souvent passer dans le milieu aqueux environnant en faisant perdre au matériau son intégrité. Dans d'autres cas, les produits de corrosion vont rester en surface sous forme solide (oxyde, hydroxyde, carbonates). Ils peuvent même donner naissance à une autoprotection appelée passivation. C'est le cas pour les aciers inoxydables. Le chrome confère aux matériaux leur caractère inoxydable par la formation d'une couche riche en oxyde de chrome, appelée le film passif (Davis, 1994). Ce film passif se forme et se renouvelle seul en présence d'oxygène ou d'eau (Maller, 1998, Olsson and Landolt, 2003). Cette couche protectrice mesure quelques nanomètres d'épaisseur (DeBold, 1988). Formée directement à partir de la réaction entre le métal et l'ion OH⁻ de l'eau, elle est capable de se réparer spontanément après une « dépassivation » accidentelle. Cependant, dans certaines conditions d'utilisation (forte teneur en chlorure du milieu, acidité), ce film peut être détruit.

II.3. Finitions des aciers inoxydables

Les classes observées sont fonction des différentes finitions de surfaces. Selon les traitements auxquels les aciers inoxydables sont soumis, soit pendant ou après le processus de production. En Europe, deux types de finition sont communément utilisées dans les industries alimentaires et les industries de boisson. Ce sont : le non-poli 2B, dont le laminage final est réalisé à froid, recuit et décapé et le recuit brillant 2R (BA), dont le laminage final à est aussi réalisé à froid, avec un recuit final réalisé sous atmosphère contrôlée. Leur rugosité moyenne Ra est d'environ 0,5 μm (Avesta Sheffield). Cependant, pour la même finition, la topographie de surface dépend de l'épaisseur des couches de l'acier inoxydable. Par ailleurs, aucune spécification particulière n'est proposée concernant l'énergie libre de surface de surface pour les surfaces en contacts avec les aliments. L'acier inoxydable employé communément dans le secteur alimentaire a une énergie de surface de l'ordre de 200 mJ.m^{-2} , les polymères et les matériaux organiques sont caractérisés par une surface d'énergie plus basse de l'ordre de 100 mJ.m^{-2} .

Cependant, cette classification est plus complexe qu'il ne paraît, car les matériaux font souvent preuve d'une grande hétérogénéité de surface identifiable non seulement à l'échelle micro mais également nanoscopique pouvant avoir un effet sur le statut hygiénique des surfaces. Par exemple, l'acier inoxydable fini 2B, est composé de grains et de grains liés, rendant ce matériau non homogène et cela en termes de topographie et d'énergie libre de surface (Geesey, 1982).

II.4. Rugosité de surface

Les surfaces en contact avec le produit doivent avoir une valeur de Ra acceptable et être exemptes d'imperfections telles que les piqûres, fissures et anfractuosités (pour la définition du Ra, voir ISO 4287 : 1997). Les grandes surfaces en contact avec le produit doivent présenter un état de surface de Ra = 0,8 μm , ou mieux, bien que la nettoyabilité dépende fortement des techniques de réalisation des finis de surface, étant donné que cela affecte la topographie de surface. On peut noter que l'acier laminé à froid possède une rugosité avec Ra = 0,2 à 0,5 μm et qu'il ne nécessite pas de polissage pour répondre aux exigences de rugosité superficielles, pourvu que les surfaces en contact avec le produit soient dénuées de toute piqûre, de creux ou d'anfractuosité dans leur état final. Une rugosité avec un Ra > 0,8 μm est acceptable si les résultats de l'essai ont montré que la nettoyabilité souhaitée est obtenue à l'aide d'autres caractéristiques de conception, ou de procédures comme un débit élevé de solution de nettoyage. En particulier, dans le cas de surfaces de polymères, l'hydrophobicité, la mouillabilité et la réactivité chimique peuvent favoriser la nettoyabilité. C'est cette topographie qui oriente la nettoyabilité. Des creux, des plis, des crevasses, des ruptures de surface et des irrégularités qui ont été matées peuvent faire apparaître des zones inaccessibles aux solutions de nettoyage.

Une surface possède des imperfections (anfractuosités) dues au mode de préparation employé lors de l'usinage des matériaux. Les bactéries en se logeant dans ces imperfections peuvent alors être protégées des agressions extérieures (nettoyant-désinfectant, ultrasons) (Boulané-Petermann, 1996). Cependant, l'effet de la rugosité sur l'adhésion bactérienne n'est pas clair :

Selon une étude réalisée par Coquet et al. (2002), sur deux souches de *Yersinia* étudiées, une forte corrélation existait entre l'importance de la rugosité (Ra) du matériau support et l'adhésion. Mais, ces résultats contrastent avec ceux de Flint et al. (2000) dans lequel ils ont constaté que pour des valeurs de Ra comprise entre 0,5 et 3,3 μm , il existait peu de corrélation entre la fixation de *streptocoques thermorésistants* à l'acier inoxydable. Whitehead and Verran (2006) ont montré que la rétention de cellules bactériennes après un trempage ou une pulvérisation sur des surfaces en acier inoxydable recouvert de titane de différentes finitions était clairement due à la topographie. Soit la topographie gouverne la rétention soit le mode d'application combiné à l'organisation des motifs de surface gouverne le phénomène de rétention. Il convient de noter que les conditions d'essais proposées dans ces différentes études sont extrêmement variées.

CONCLUSION

La rugosité du support est certainement le paramètre le plus discuté dans la littérature. Selon certains auteurs, la présence de « microcrevasses » peut favoriser l'adhésion en protégeant les microorganismes des phénomènes de cisaillement hydrodynamique. Pour d'autres, en revanche, la rugosité permet de réduire la surface de contact entre le microorganisme et le support, favorisant ainsi son détachement (Boulangé-Petermann et al., 1997). Mais les espèces étudiées, les supports et les méthodes d'évaluation de l'adhésion étant variés, il est difficile d'édicter des règles.

CHAPITRE V : DESINFECTION DES EQUIPEMENTS ET RESISTTANCE DES BIOFILMS EN MILIEU AGRO-ALIMENTAIRES

Résumé

Ce chapitre est consacré à la désinfection des installations dans les agro-industries. Cette revue bibliographique portera plus spécifiquement sur l'hygiène en industries alimentaires ; une étude sur la résistance des biofilms à la désinfection en environnement industriel sera abordée. Aussi ce chapitre fera un point sur la désinfection et les mécanismes d'action des produits de désinfection. Nous donnerons des éléments sur les facteurs influençant l'efficacité des désinfectants ainsi que les mécanismes de résistance bactérienne aux désinfectants. Nous terminerons par une présentation des aspects réglementaires relatifs à la désinfection.

INTRODUCTION

Historiquement, les équipements destinés à la transformation des aliments étaient ouverts et nettoyés individuellement. La production à grande échelle a conduit à la nécessité pour les industriels de la mise en place de systèmes de Nettoyage-En-Place (NEP). Ces systèmes permettent le nettoyage et la désinfection des équipements soit par la circulation de fluides, ou alors par un nettoyage chimique et mécanique, soit par le frottement visqueux ou l'impact de jets dans le cas par exemple des cuves. Ces processus très développés sont automatisés, mais sont rarement efficaces s'ils ne sont pas optimisés. Ces procédures sont toujours systématiques, mais leurs applications ne sont pas encore scientifiques.

De nombreux produits chimiques sont utilisés quotidiennement en industrie agroalimentaire : produits de nettoyage, désinfectants, savons antimicrobiens, antiseptiques, antibiotiques, etc. Cependant qu'en est-il de l'usage de ces biocides sur la résistance des bactéries ? Cette préoccupation s'est fortement amplifiée ces dernières années. Elle est due au nombre croissant de souches résistantes qui apparaissent mais aussi à leur capacité à survivre en industrie alimentaire. De ce fait, de nombreuses recherches sont actuellement menées afin de déterminer les mécanismes mis en jeu permettant d'activer une résistance à certains produits. La majeure partie de ces recherches porte sur l'étude des biofilms qui jouent un rôle important dans la protection des bactéries contre l'exposition à des agents désinfectants. Mais peu d'études ont concentré leurs travaux sur les effets des traitements des surfaces par les protocoles de nettoyage et désinfections et ce qu'il peut engendrer comme changement dans la structure des surfaces avec toutes les conséquences éventuelles sur l'augmentation des risques de bio détérioration et bio contamination.

I. Désinfection et critères de choix des désinfectants

Dans les industries alimentaires, les surfaces des équipements ne doivent pas constituer une source de contaminations pour les aliments qui entrent en contact avec elles. Les opérations de nettoyage en fin de fabrication éliminent une partie notable des micro-organismes apportés par les aliments. Mais cette élimination est insuffisante, et un traitement complémentaire s'impose : c'est la désinfection.

Lorsqu'on se propose de réaliser cette opération, il convient de ne pas perdre de vue un certain nombre de données fondamentales (FAO, 1993) :

- a. Il faut tout d'abord connaître la nature des micro-organismes à détruire. Les bactéries gram+, les bactéries gram-, les formes sporulées, les levures, les moisissures, les virus, les bactériophages résisteront différemment à un désinfectant donné.
- b. Il faut ensuite déterminer dans quelles conditions pratiques pourra se dérouler l'opération de désinfection. Les principaux critères à prendre en compte seront :
 - Le temps disponible pour l'opération ;
 - La plage de pH possible ;
 - La plage de température admissible ;
 - La possibilité ou non d'utiliser un désinfectant moussant.
- c. Les deux points précédents doivent permettre de sélectionner quelques bases désinfectantes parmi toute la panoplie des molécules actives disponibles. Le choix final sera fait après considération des critères ci-après :
 - Aspect législatif : dans certains pays, il existe une liste positive. Dans tous les cas, il faudra vérifier que le désinfectant pressenti est bien autorisé.
 - Vérifier la qualité du nettoyage préalable à la désinfection. En effet, certains désinfectants sont beaucoup plus sensibles que d'autres à la présence de matière organique résiduelle sur les supports à désinfecter.
 - S'assurer que le désinfectant à la dose d'utilisation n'aura pas d'effet corrosif notable sur le support à désinfecter.
 - Tenir compte du phénomène d'accoutumance qui peut exister avec certaines molécules désinfectantes.
 - Vérifier que les composés qui peuvent apparaître secondairement ne sont pas toxiques, ne nuisent pas aux propriétés organoleptiques du produit, ne gênent pas le bon déroulement du traitement.
- d. Si après avoir considéré tous les critères précédents, plusieurs molécules actives ou plusieurs produits commerciaux peuvent être retenus, le choix final se fera en tenant

compte des facilités d'utilisation (sécurité du personnel, facilité du contrôle du rinçage, etc.) de l'efficacité et du prix de revient de l'opération de désinfection.

Le produit de désinfection "miracle" n'existe pas. Dans la pratique industrielle, on se contente donc de compromis qui visent à assurer la sécurité du personnel des usines et celle du consommateur.

Il faut toujours se souvenir que le vrai problème n'est pas toujours l'opération de désinfection en elle-même, mais plutôt le maintien des surfaces exemptes de germes en attendant la mise en service de l'installation. En effet, la désinfection est une opération au résultat momentané, limité aux micro-organismes présents au moment de l'opération.

II. Produits de désinfections couramment utilisés en IAA

La désinfection a pour objectif de détruire ou d'inactiver tous germes encore présents sur une surface inerte à la suite d'une étape de nettoyage. L'intérêt de l'étape de nettoyage est d'augmenter l'efficacité des produits désinfectants qui peuvent être partiellement neutralisés par la matière organique. Les critères d'un désinfectant idéal sont les suivants :

- ❖ Large spectre d'activité,
- ❖ Utilisable à faible concentration,
- ❖ Action durable,
- ❖ Sans danger pour l'utilisateur,
- ❖ Ne laisse aucun résidu.

Parmi les principaux produits de désinfection utilisables en industries agro-alimentaires, on trouve :

◆ Les halogènes - les composés chlorés

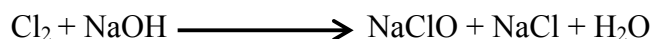
Le plus connu est l'hypochlorite de sodium (eau de javel), mais il en existe d'autres (chloramines, acides chlorocyanuriques, ...). Les générateurs d'acide hypochloreux sont de très bons bactéricides et virucides. Ces composés sont efficaces sur les spores mais leur activité fongicide est peu marquée (Criquelion et *al.*, 1999). Par contre, ils sont très instables à la chaleur et à la lumière et leur efficacité diminue en présence de matières organiques. Ils sont corrosifs et les émanations gazeuses sont dangereuses pour les muqueuses respiratoires de l'opérateur.

◆ Les oxydes et peroxydes

Ce sont des molécules oxydantes dont la plus fréquente en désinfection est le peroxyde d'hydrogène qui possède un large spectre d'action à faible concentration. Il agit sur les micro-organismes en modifiant la perméabilité de la membrane cellulaire. Ce composé est de plus en plus utilisé en entreprises car il est compatible avec beaucoup de matériaux (acier inoxydable, Polychlorure de vinyle PVC, polyéthylène) et a l'avantage d'être peu toxique.

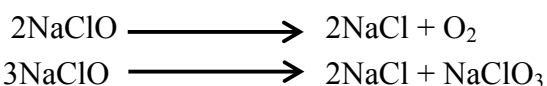
II.1. Hypochlorite de sodium

L'hypochlorite de sodium est traditionnellement formé en portant à ébullition du chlore sous forme gazeuse (Cl_2) au travers d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH), pour obtenir de l'hypochlorite de sodium (NaClO), du chlorure de sodium (NaCl) et de l'eau (H_2O).



Dans l'eau, l'hypochlorite de sodium s'ionise pour produire des ions Na^+ et OCl^- qui forment un équilibre avec l'acide hypochloreux (HClO) (Haapasalo et al., 2005). L'activité de l'hypochlorite est d'autant plus efficace que la proportion d' HClO est grande (McDonnell and Russell, 1999).

L'hypochlorite de sodium, sous sa forme commerciale, est une solution fortement alcaline, hypertonique et variant pour des concentrations de chlore entre 10 et 14%. L'excès de chlore mène à une solution acide et instable qui en fait un de ses inconvénients. Les solutions concentrées à plus de 5% requièrent un conditionnement spécifique pour empêcher la formation d'oxygène. Ces changements chimiques sont synthétisés par deux équations :



Toutes les solutions d'hypochlorite de sodium commercialisées contiennent d'autres substances que l'hypochlorite de sodium lui-même, ces substances pouvant être (Clarkson and Moule, 1998) :

- des produits de dégradation de l'hypochlorite de sodium comme le chlorate de sodium (NaClO_3) et le chlorure de sodium (NaCl).
- de l'hydroxyde de sodium (NaOH) : qui permet de maintenir un pH élevé et donc sa stabilité.
- des ions métalliques : qui proviennent de la chaîne de fabrication ou de son conditionnement pendant sa commercialisation.
- des amines chlorés : qui proviennent de la réaction avec des substrats organiques qui peuvent contaminer la solution.
- des parfums : pour celles qui sont destinées à un usage domestique.
- des surfactants : pour abaisser la tension superficielle et permettre un meilleur nettoyage.

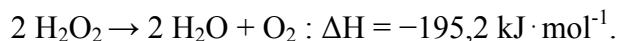
II.2. Peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène est un composé chimique de formule H_2O_2 . Sa solution aqueuse est appelée eau oxygénée. Elle est incolore et légèrement plus visqueuse que l'eau. Le peroxyde d'hydrogène possède à la fois des propriétés oxydantes par exemple vis-à-vis d'ions iodure et des propriétés réductrices par exemple vis-à-vis des ions permanganate. C'est un agent de blanchiment efficace. Il est utilisé comme antiseptique.

La molécule de peroxyde d'hydrogène contient un atome d'oxygène extra en comparaison à la plus stable molécule d'eau. Il réagit très rapidement dans l'eau. Il est ensuite

désintégré en oxygène et en eau, sans formation de sous-produits. Cela augmente la quantité d'oxygène dans l'eau.

Le peroxyde d'hydrogène existe naturellement chez les êtres vivants comme sous-produit de la respiration cellulaire. Tous les organismes aérobies possèdent des enzymes, appelées peroxydases, qui catalysent la dismutation de H_2O_2 en H_2O et O_2 :



La molécule de peroxyde d'hydrogène contient un atome d'oxygène extra en comparaison à la plus stable molécule d'eau. La liaison entre les deux atomes d'oxygènes, aussi appelée liaison peroxyde, est cassée alors que deux radicaux HO^\bullet sont formés. Ces radicaux réagissent rapidement avec d'autres substances alors que de nouveaux radicaux sont formés et qu'une chaîne de réactions a alors lieu. La solution de peroxyde d'hydrogène ressemble à de l'eau et peut être dissoute dans l'eau sans restriction. Pour de hautes concentrations, ces solutions sont irritantes et dégagent une odeur acide. Le peroxyde d'hydrogène est inflammable. A basses températures, il devient solide. La quantité de peroxyde d'hydrogène dans la solution est exprimée en pourcentage pondéral.

III. Mécanismes d'action des désinfectants

La compréhension des mécanismes d'action des désinfectants répond à plusieurs objectifs : tout d'abord, ils permettent la mise au point de solutions désinfectantes ayant une efficacité antimicrobienne améliorée, ensuite, ils participent à la prévention de l'émergence de la résistance bactérienne (Denyer and Stewart, 1998, Maillard, 2002).

Parmi les désinfectants, on trouve d'une part des composés très réactifs, ayant une action brutale, rapide, temporaire et souvent non spécifique dont des oxydants comme les produits chlorés et d'autre part des composés chimiquement stables, ayant une action plus spécifique, parmi lesquels les composés d'ammoniums quaternaires.

Le mode d'action des désinfectants est plus ou moins bien compris selon les molécules. Fleurette et al. (1997) ont proposé un mode d'action en cinq étapes :

1/ adsorption à la surface de la cellule suivie de la pénétration dans la paroi (gram positif) ou la membrane externe (gram négatif) ;

2/ réactions complexes avec la membrane cytoplasmique, qui est le site d'action primaire, conduisant à sa désorganisation ;

3/ sortie des composants de faibles poids moléculaires du cytoplasme ;

4/ dégradation des protéines et des acides nucléiques ;

5/ lyse de la paroi causée par les enzymes autolytiques.

La figure 8 présente les sites d'actions des désinfectants en fonction des types de micro-organismes.

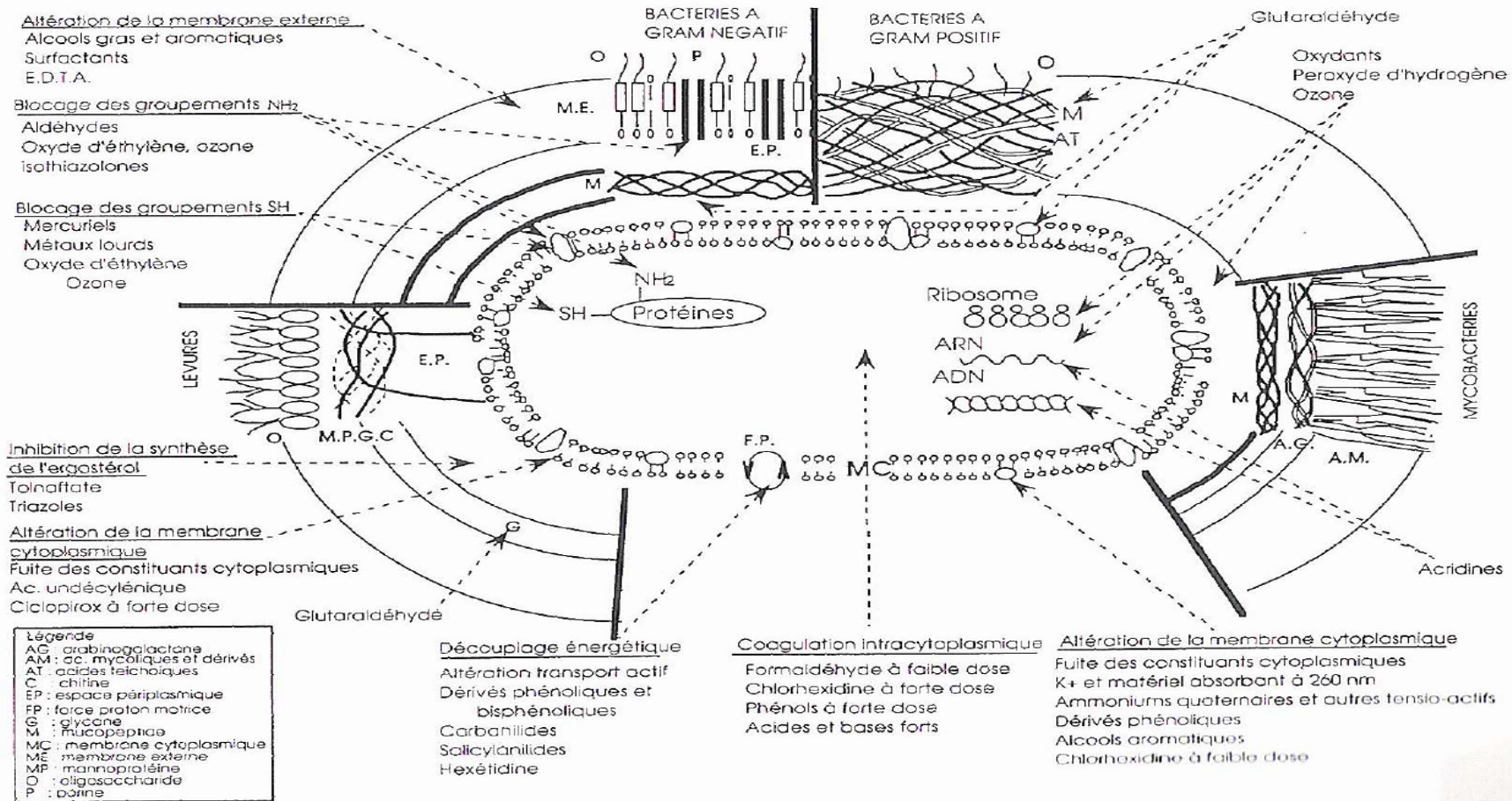


Figure 8. Sites d'action des molécules antiseptiques et désinfectantes selon les micro-organismes, d'après Cremieux and Freney (1995).

III.1. Mécanisme d'action des produits chlorés

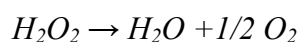
L'hypochlorite de sodium est un puissant antiseptique. C'est un agent anti-bactérien à large spectre qui s'est avéré efficace contre les bactéries, spores, levures et virus (Byström and Sundqvist, 1983).

Son activité bactéricide est liée à la libération de l'acide hypochloreux (HOCl) lors de sa dissociation dans l'eau. Cet agent antimicrobien pénètre facilement à travers les parois et les membranes de cellules microbiennes. Il agit par un mécanisme rapide d'oxydation générale entraînant la dénaturation des protéines (Maris, 1995). En conséquence, l'arrêt des réactions du métabolisme conduit à la mort cellulaire (Trueman, 1971).

III.2. Mécanisme d'action du peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde est un composé chimique qui contient l'ion peroxyde (O_2^{2-}). L'ion peroxyde consiste en une liaison simple entre deux atomes d'oxygènes : $(O-O)^{2-}$. C'est un oxydant puissant.

Le mécanisme de désinfection du peroxyde d'hydrogène est basé sur le dégagement des radicaux libres d'oxygène :

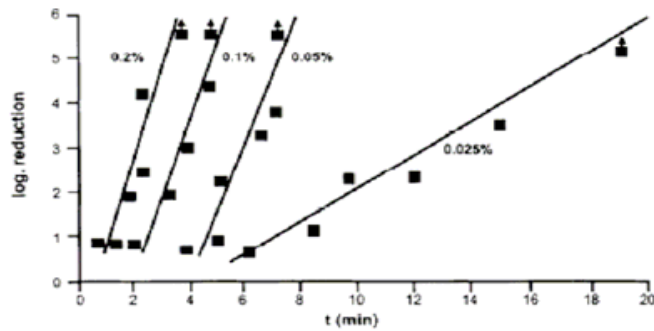


Les radicaux libres sont à la fois oxydants et désinfectants. Le mode d'action du peroxyde d'hydrogène est basé sur la libération d'oxygène entraînant l'oxydation des systèmes enzymatiques (Bartoli and Dusseau, 1995). Ils entraînent une désorganisation de la membrane cellulaire (Maris, 1995).

IV. Facteurs influençant l'efficacité des désinfectants

IV.1 Concentration et temps de contact

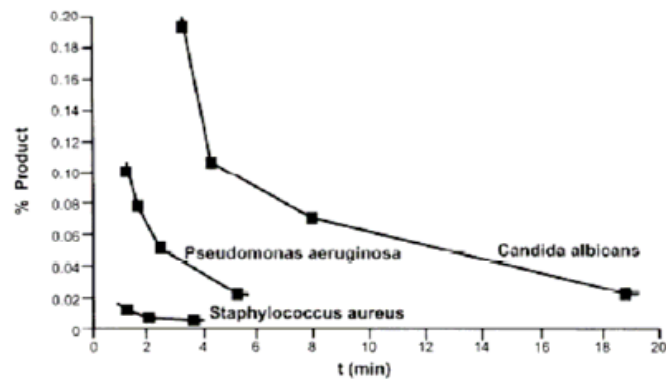
La figure 9 montre la relation entre le temps de contact avec le désinfectant et la réduction logarithmique sur le micro-organisme *Candida albicans*. Le désinfectant utilisé est un composé halogéné. Une augmentation de la concentration en désinfectant diminue le temps de contact nécessaire pour obtenir la même réduction logarithmique en microorganisme et réciproquement.



Méthode : Test en suspension CEN

Conditions du test : eau non dure et pas d'ajout de protéine (albumine sérique bovine)

Figure 9. Activité d'un composé halogéné sur *Candida albicans* d'après Bessems (1998)



Méthode : Test en suspension CEN

Conditions du test : eau non dure et pas d'ajout de protéine (albumine sérique bovine)

Figure 10. Activité d'un composé halogéné sur différents microorganismes d'après Bessems (1998)

IV.2. Type de microorganisme

Le même type d'expérience que celui présenté sur la figure 8 peut être reproduit pour différents types de microorganismes. Les résultats obtenus permettent de définir le spectre d'activité du désinfectant. Sur la figure 9, la relation temps-concentration nécessaire pour obtenir une réduction de 5 logarithmes est donnée pour *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. On peut voir sur cette figure que le composé halogéné a une faible activité sur *Candida albicans* : concentration élevée et temps long, et par contre qu'il tue *Staphylococcus aureus* à une concentration relativement faible et en un temps plus court.

Ces résultats indiquent que le type de micro-organisme visé est un paramètre très important dans le choix de la molécule désinfectante, sa concentration et le temps de contact.

IV.3. Importance du nettoyage

Les molécules désinfectantes sont des composés chimiques qui réagissent avec les molécules organiques présentes dans le milieu dans lequel elles sont appliquées. Les désinfectants doivent donc être appliqués sur des surfaces nettoyées auparavant, c'est-à-dire débarrassées des résidus de matière organique.

V. Résistances bactériennes aux désinfectants

V.1. Définitions et généralités

❖ Nettoyage et désinfection

En industrie agroalimentaire, le nettoyage correspond à l'enlèvement des souillures, des résidus d'aliments, de la saleté, de la graisse ou de toute autre matière indésirable. La désinfection est la réduction au moyen d'agents chimiques ou de méthodes physiques du nombre de microorganismes présents dans l'environnement jusqu'à l'obtention d'un niveau ne risquant pas de compromettre la sécurité ou la salubrité des aliments (AFNOR, 1999).

❖ Désinfectants

Un désinfectant est un produit chimique qui détruit les microorganismes. Il est destiné à être utilisé sur les objets inanimés ou les surfaces. De nombreuses familles chimiques et leurs composés sont regroupés sous le terme de désinfectant. Dans l'industrie agroalimentaire, l'utilisation des désinfectants vise à éliminer les flores pathogènes et d'altération qui pourraient nuire à la santé du consommateur ou aux qualités organoleptiques du produit. Les principales molécules désinfectantes utilisées en industrie agro-alimentaire sont indiquées dans le tableau 4.

❖ Résistance, sensibilité diminuée, moindre sensibilité

La terminologie et la méthodologie relatives à la résistance aux biocides dérivent des travaux réalisés sur les antibiotiques et on retrouve une tendance à extrapoler des antibiotiques aux désinfectants, sans considérer les différences fondamentales qui existent entre leur mécanisme d'action et les méthodes utilisées pour évaluer leur efficacité. Dans le contexte des antibiotiques, la résistance se réfère à la prévision du succès ou de l'échec thérapeutique. Dans le cas des désinfectants, il n'y a pas de situation clinique, il semble donc préférable d'utiliser les termes de « diminution de la sensibilité » ou de « sensibilité moindre ». Ce terme de « moindre sensibilité » est fréquemment retrouvé dans les études portant sur la sensibilité des bactéries aux désinfectants (McDonnell and Russell, 1999, Beumer et al., 2000, Langsrud et al., 2003).

Comme pour les antibiotiques, plusieurs définitions de la résistance aux désinfectants sont retrouvées dans la littérature, elles font référence à une population et à une méthode d'étude. Le seuil choisi est lié à la méthode d'étude. La résistance peut être définie comme la capacité temporaire ou permanente d'un microorganisme et de sa descendance à rester viables

et/ou à se multiplier dans des conditions qui pourraient détruire ou inhiber d'autres souches de la même espèce (Cloete, 2003). Cette définition est liée à la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI). D'autres auteurs (Gilbert and McBain, 2003) définissent la résistance comme l'insensibilité relative d'un microorganisme à un désinfectant dans les conditions utilisées en pratique. Il s'agit alors d'une résistance « de terrain » qui peut être étudiée par rapport à la CMB nécessaire pour obtenir un effet visible sur la population bactérienne. Comme pour les antibiotiques, la définition que l'on donne de la résistance est liée à la technique d'étude choisie (CMI ou CMB) (Sidhu et al., 2002a).

Tableau 4 : Synthèse du mécanisme de l'action antibactérienne d'antiseptiques et de désinfectants (Allion, 2004)

| Produit | Utilisation | Mode d'action | Cibles |
|------------------------|--------------------|---|---|
| Oxydants | Désinfection | Oxydation | Lipides, liaisons sulfurées, acides nucléiques et systèmes enzymatiques |
| Halogènes et dérivées | Antiseptie | Oxydation générale | Protéines |
| | Désinfection | | |
| Acides | Désinfection | Précipitation des protéines par modification du pH. | Liaisons aminoacides des acides nucléiques, |
| Bases | Désinfection | Saponification des lipides membranaires | Membranes cellulaires |
| Alcools | Antiseptie | Dénaturation des protéines | Protéines |
| | Désinfection | | |
| Aldéhydes | Désinfection | Agent réducteur | Protéines, ARN et ADN |
| Ammoniums quaternaires | Désinfection | Perméabilisation de la membrane cytoplasmique | Phospholipides membranaires |
| | Antiseptie | | |
| Biguanides | Antiseptie | Modification de la perméabilité membranaire | Membranes bactériennes |
| | Désinfection | | |
| Dérivés phénoliques | Antiseptie | Formation de complexes instables | Membrane cellulaire et enzymes cytoplasmiques |

❖ Pseudo-résistance, adaptation et tolérance

La pseudo-résistance est une résistance qui est liée à une mauvaise utilisation en pratique du désinfectant, c'est à dire un non-respect par l'utilisateur des conditions d'utilisation (spectre d'activité, concentration, température, temps de contact, pH, présence de matière organique). Une pseudo résistance peut également être liée à la nature de la surface à

traiter : inaccessibilité ou nature du matériau qui ne permet pas le maintien du désinfectant à sa surface (Heinzel, 1998).

- ❖ L'adaptation, le plus souvent, fait référence à une résistance qui est entraînée par les conditions du biotope. Ce phénomène peut être provoqué au laboratoire par des cultures successives des bactéries dans des milieux contenant des concentrations de plus en plus importantes de désinfectant. Le phénomène d'adaptation est en général réversible et disparaît quand le désinfectant n'est plus présent dans le milieu.
- ❖ En raison du manque de standardisation de la définition de la résistance aux désinfectants, le terme de tolérance peut être utilisé à la place du terme de résistance

V.2. Mécanismes de résistance bactérienne aux désinfectants

Les bactéries résistantes peuvent être sélectionnées lorsqu'elles sont mises en contact avec des concentrations sub-létales de produits désinfectants. La fréquence de cette situation est probablement sous-estimée car dans les conditions pratiques, les bactéries peuvent être au sein de biofilms et le désinfectant peut être partiellement inactivé par des substances présentes dans le milieu (persistance de matières organiques suite à un nettoyage imparfait) ou des conditions d'utilisation du désinfectant non respectées (pH, température, temps de contact). Un rinçage insuffisant des surfaces traitées peut également entraîner la présence de désinfectant à des concentrations sub-létales et entraîner une exposition des bactéries présentes dans le milieu extérieur à ces concentrations.

V.2.1. Résistance intrinsèque des différents groupes bactériens

La résistance des micro-organismes aux désinfectants est dite intrinsèque lorsque toutes les souches de l'espèce considérée sont résistantes au désinfectant testé. Ces observations conditionnent le spectre d'activité du désinfectant. Parmi les bactéries, celles à coloration de Gram négative sont en général relativement moins sensibles que celles à coloration de Gram positive parce que la paroi bactérienne (membrane externe) joue un rôle de barrière qui limite l'entrée dans la cellule de nombreux agents antimicrobiens (Sidhu et al., 2002b).

V.2.2. Mécanismes de résistance acquise aux désinfectants

V.2.2.1. Mécanismes de résistance acquise

Comme nous l'avons vu dans les paragraphes précédents, les conditions environnementales sont très importantes pour l'efficacité des désinfectants et en particulier l'état physiologique des bactéries (c'est à dire leur stade de croissance), leur interaction avec les surfaces, leur présence au sein d'un biofilm, la production de mucus, la présence de matière organique ou d'autres micro-organismes. En fonction de ces conditions, les bactéries sont capables de survivre à la désinfection dans les environnements agroalimentaires même si leur concentration minimal inhibitrice mesurée au laboratoire est plus faible que la concentration d'utilisation du désinfectant (Sidhu et al., 2002a).

Une résistance bactérienne aux désinfectants a été rapportée pour les composés iodés, les ammoniums quaternaires, les peroxydes, les composés phénols, les composés chlorés et le glutaraldéhyde. Les conséquences de cette résistance sont sanitaires (santé humaine et santé animale) et économiques.

Les substances antibactériennes sont très nombreuses, mais elles ont un nombre limité de mode d'action et les bactéries n'ont finalement développé qu'un nombre limité de stratégies pour résister. La résistance peut résulter d'une mutation, de l'acquisition de nouveaux gènes par un transfert horizontal, ou de l'expression de gènes auparavant silencieux. Les stratégies disponibles pour les cellules isolées sont (Heinzel, 1998, McDonnell and Russell, 1999, Sidhu et al., 2002b, Chapman, 2003) :

- Des modifications des sites d'action, cibles des désinfectants dans la cellule bactérienne
- L'inactivation des molécules désinfectantes par un inhibiteur (le plus souvent des enzymes comme les peroxydases)
- La réduction de la concentration intracellulaire de la molécule désinfectante soit en diminuant la perméabilité de la membrane soit en augmentant les mécanismes d'efflux.

V.2.2.2. Résistance des bactéries du biofilm aux désinfectants

Les populations bactériennes peuvent s'organiser sous la forme d'un biofilm. Cette structure induit une diminution de l'accès du désinfectant aux bactéries par différents moyens (Chapman, 2003):

- Les molécules de désinfectant réagissent avec les composés extracellulaires du biofilm (glycocalyx)
- La structure du biofilm diminue la cinétique de diffusion au sein du biofilm. De plus, le gradient de nutriments et de toxiques diffusant au sein du biofilm entraîne des altérations phénotypiques qui conduisent à l'observation au sein de la population du biofilm de phénotypes sensibles à résistants. Dans les biofilms, des bactéries présentant un phénotype résistant au sein des populations bactériennes sensibles sont nommées « persister » (Lewis, 2005).

Dans certaines études, il a été démontré que les désinfectants tels que l'acide peracétique, le chlorure mercurique et le formaldéhyde n'ont aucun effet sur les biofilms situés sur des surfaces ouvertes et en particulier des revêtements de sol (Carpentier and Cerf, 1993). Il a été également signalé que *Listeria monocytogenes* adhéree à une surface alimentaire montrait une résistance accrue à des désinfectants classiques comme l'acide anionique et des composés d'ammonium quaternaire (Petrocci, 1983, Mustapha and Liewen, 1989, FRANK and Koffi, 1990). L'explication raisonnable de l'efficacité réduite de ces agents contre les biofilms est la pénétration incomplète dans celui-ci par ces biocides (Huang et al., 1995) et la grande variation des conditions environnementales existant sur les surfaces de contact alimentaires. La présence de particules abiotiques, de kaolin et de carbonate de

calcium dans les biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Klebsiella pneumoniae* est également impliquée dans la réduction de l'efficacité des biocides (Srinivasan et al., 1995).

Certaines études sur des bactéries issues d'aliments contaminés ont montré que la résistance contre les désinfectants est plus sévère dans les biofilms anciens (plus de 24 h) que dans les plus jeunes (Anwar et al., 1990, FRANK and Koffi, 1990, Wirtanen and Mattila-Sandholm, 1992). Plusieurs auteurs ont démontré l'augmentation de la résistance des biofilms bactériens aux antibiotiques (Widmer et al., 1990);(Anwar et al., 1992). Le mécanisme possible proposé pour cette résistance aux substances antimicrobiennes par les bactéries est la production d'enzymes dégradant ces substances c'est-à-dire les β -lactamases. Ces enzymes dégradent et inactivent les antibiotiques qui pénètrent par le biais de l'enveloppe de la cellule jusqu'à leurs sites cibles. Au sein de biofilms, beaucoup d'enzymes hydrolytiques similaires ont été retrouvées et sont suspectées de participer à la protection de ses bactéries. En outre, la résistance du biofilm peut également être due de façon plus triviale aux bactéries elles-mêmes.

V.2.2.3. Résistance des bactéries du biofilm aux composés antimicrobiens

Il est bien établi que les biofilms bactériens présentent une résistance accrue aux traitements antimicrobiens par rapport aux cellules individuelles cultivées en suspension (Petrocci, 1983, Mustapha and Liewen, 1989, Kryszynski et al., 1992). Cette résistance des bactéries au sein du biofilm a été largement observée et est attribuée à des propriétés variées du biofilm lui-même : réduction de la diffusion, réduction du taux de croissance en raison des changements physiologiques et la production d'enzymes dégradant les substances antimicrobiennes. En outre, il est difficile d'établir lequel de ces mécanismes a causé cette résistance ou plutôt la combinaison des mécanismes engendrant la résistance des populations. La résistance antimicrobienne exposée par le biofilm est liée à sa structure en trois dimensions et cette résistance est perdue dès que cette structure est interrompue (Hoyle et al., 1992). Par conséquent, la production de quantités excessives de substances polymériques par les bactéries pendant la formation du biofilm et la croissance peuvent protéger les cellules en profondeur c'est-à-dire les cellules en contact avec le support. Lorsque des substances antimicrobiennes sont mises en contact avec ce biofilm, leurs effets sont estompés parce qu'elles diffusent par les EPS (Farber et al., 1990, HOYLE et al., 1990).

En outre, les agents antimicrobiens sont beaucoup plus efficaces contre les cellules lors de leur croissance active c'est-à-dire que le meilleur désinfectant pour les cellules planctoniques n'est pas nécessairement celui appropriés pour les cellules de biofilm (Holah et al., 1989). Les cellules dans la couche profonde du biofilm reçoivent moins d'oxygène et de nutriments que celles à la surface du biofilm (Brown et al., 1988). On parle alors de cellules dormantes ou simplement à croissance très faible dont l'état physiologique modifié entraîne une augmentation de résistance aux agents antimicrobiens (Gilbert et al., 1990, Evans et al., 1991, McFeters et al., 1995). Dans les biofilms mixtes, une concurrence de nutriments

entraîne une carence en éléments nutritifs, qui a également un rôle majeur dans la résistance des biofilms aux agents de traitement antimicrobien (Berg et al., 1982).

VI. Aperçu sur la réglementation

La capacité des microorganismes à s'adapter de façon très rapide à leur environnement, en développant une résistance aux éléments extérieurs agressifs est aujourd'hui bien connue, et pose de nombreux problèmes sur le plan hygiénique et économique. Ils sont responsables de perte de milliards de dollars mondialement dans la production industrielle causant des dommages d'équipements, des contaminations et des altérations du produit au niveau des lignes de production.

Ceci incite les industriels à lutter contre les sources de contamination souvent insoupçonnées dans la production. Des procédures d'hygiène générale sont mises en place dans les unités, en utilisant des produits détergents et désinfectants. Ceux-ci revendiquent des actions bactéricide, levuricide et fongicide, voir sporicide, et pour certains, anti-biofilm.

Cependant, les unités industrielles marocaines souffrent de manque important en matière de normes nationales claires et spécifiques détaillant les exigences techniques relatives à la désinfection des surfaces industrielles. Pour ce, la majorité des industries suit les exigences techniques données par les sociétés commercialisant les désinfectants. Ces exigences sont souvent basées sur des normes européennes décrivant les produits de désinfection et leurs procédures d'application.

Certes, les normes européennes spécifient les méthodes d'application des désinfectants, mais ces procédures sont toujours systématiques et leurs applications n'est pas encore scientifiquement maîtrisées par rapport à l'état adhérent des cellules microbiennes et à la forme de biofilm. Ainsi, toute combinaison microbe-matériau-environnement-désinfectant devrait être justifiée et maîtrisée pour garantir une lutte optimale contre les biofilms et donc contre les risques de biocontaminations.

VI.1. Réglementation marocaine relative aux produits de désinfections

La réglementation marocaine relative aux produits de nettoyage et désinfection est très récente et très limitée. En effet, l'arrêté du ministre de l'agriculture, de la pêche maritime, du développement rural et des eaux et forêts et du ministre de la santé n°2300-17 du 11 moharrem 1440 (21 septembre 2018) fixant les caractéristiques d'efficacité, de toxicité et de pureté des produits de nettoyage et de désinfection et les conditions de leur utilisation dans les établissements et entreprises du secteur alimentaire et du secteur de l'alimentation animale vient d'être publié au Bulletin Officiel n°6726 du 15/11/2018.

Cet arrêté précise que la liste des produits de nettoyage et de désinfection qui peuvent être utilisés dans les établissements et les entreprises du secteur alimentaire et du secteur de l'alimentation animale est fixée par le Directeur Général de l'ONSSA, publiée sur le site web de l'ONSSA.

Aussi, l'article 4 mentionne que les caractéristiques d'efficacité, de toxicité et de pureté des produits de nettoyage et de désinfection sont celles prévues par les normes marocaines homologuées ou, le cas échéant, les normes du Codex alimentarius ; qui tiennent compte de l'usage auquel lesdits produits sont destinés.

Ces exigences restent très générales et ne se base pas sur une approche scientifique facile à exécuter par les industriels.

VI.2. Réglementation européenne relative aux produits de désinfections

Dans certains pays d'Europe, l'homologation des produits est normalisée depuis plus de vingt ans. La procédure expérimentale comprend des phases et étapes dont les résultats permettent de déterminer l'efficacité du produit.

La phase 1 est composée d'un test qualitatif en solution. On détermine si le produit, dilué à différentes concentrations dans l'eau, agit contre les micro-organismes cibles.

La phase 2 (étape 1) est composée d'un test quantitatif en solution par lequel on détermine la réduction du nombre de pathogènes cibles, calculée en log 10 de micro-organismes. Le produit n'est pas seulement dilué dans l'eau mais également dans une solution contenant des substances qui simulent une charge organique. Cette étape permet de vérifier si les protéines inhibent l'activité des désinfectants.

La phase 2 (étape 2) simule les conditions lors de l'utilisation pratique du produit. Contrairement aux tests précédents de la procédure, identiques pour tous les modes d'application, les tests de cette dernière étape diffèrent selon les caractéristiques du désinfectant.

Les phases et étapes de la procédure permettent de caractériser l'efficacité du désinfectant envers les différents pathogènes cibles. La normalisation permet de comparer les différentes formulations de substances actives. Elle permet également d'établir des objectifs de réduction selon le type de micro-organisme :

5 log₁₀ pour les bactéries ; 4 log₁₀ pour les champignons ; 4 log₁₀ pour les virus.

VI.3. Autorisation sur les désinfectants mise en contact avec les aliments

Pour les surfaces en contact avec les aliments, l'utilisation des agents antimicrobiens dans les industries agro-alimentaires implique une inscription préalable sur une liste positive. L'arrêté du 15 juin 1993 modifiant et complétant l'arrêté du 27 octobre 1975 relatif aux produits de nettoyage du matériel pouvant se trouver au contact des denrées alimentaires, précise la liste exacte des molécules pouvant être utilisées pour des opérations de désinfection, ainsi que les molécules entrant dans la catégorie des agents de surface cationiques.

Les produits désinfectants (par exemple, ceux destinés à la désinfection des sols et surfaces) sont soumis à la réglementation européenne relative aux biocides (directive 98/8/CE

du 16.02.98 concernant la mise sur le marché des produits biocides).

Plus récemment, le règlement de l'union européen REACH, « Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals », est entré en vigueur le 1^{er} juin 2007. Ce règlement exige à ce que les entreprises identifient et gèrent les risques liés aux substances qu'elles fabriquent et commercialisent dans l'UE. Elles doivent montrer comment la substance peut être utilisée en toute sécurité et communiquer les mesures de gestion des risques aux utilisateurs.

Si les risques ne peuvent être gérés, les autorités peuvent restreindre l'utilisation des substances de plusieurs manières. Sur le long terme, les substances les plus dangereuses doivent être remplacées par des substances qui le sont moins.

VI.4. Méthode standardisée d'évaluation de la résistance aux désinfectants

Les méthodes d'évaluation des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (respectivement CMI et CMB) sont utilisées pour mettre en évidence des résistances aux désinfectants chez les bactéries notamment à l'état libre (planktonique) (Chapman, 2003, TRACHOO and Frank, 2002, Wang et al., 1983, Gilbert and McBain, 2003)

Dans le cadre de l'obtention des AMM (autorisation de mise sur le marché) pour les désinfectants utilisés en industrie agroalimentaire et en élevage (Loi du 22 décembre 1972) l'activité bactéricide du produit est appréciée par des essais, selon des normes standardisées AFNOR (Association française de normalisation) ou CEN (Centre européen de normalisation).

Le schéma opératoire d'une de ces normes est fourni en figure 11. Ce test d'efficacité détermine une concentration minimale bactéricide (CMB) qui est définie comme la plus faible concentration de désinfectant qui permet de réduire d'au moins 10^5 fois le nombre de bactéries, appartenant à des souches identifiées d'espèces microbiennes, mises en suspension dans un milieu liquide, et dans des conditions de temps et de température choisies et précisément définies (norme NFT 72-300) (AFNOR, 1989).

La standardisation porte sur l'inoculum bactérien, la dureté de l'eau, les conditions de propreté ou de saleté (simulées par l'ajout d'albumine bovine dans la suspension) et le temps de contact. En fonction de la méthode, au cours de l'essai, le désinfectant peut être inactivé soit par une méthode de filtration, soit par l'ajout d'un neutralisant dans la suspension contenant les bactéries. La dose d'emploi du produit appliquée sur le terrain doit être au moins égale, sinon supérieure à la valeur de la CMB déterminée selon ces normes d'études. La CMB est à relier à l'efficacité du désinfectant et cette efficacité est exprimée en réduction logarithmique de la population bactérienne étudiée pendant un temps de contact fixé (Bessems, 1998).

Il est difficile de standardiser au laboratoire les conditions d'application des désinfectants en pratique. L'extrapolation des résultats au laboratoire est donc délicate.

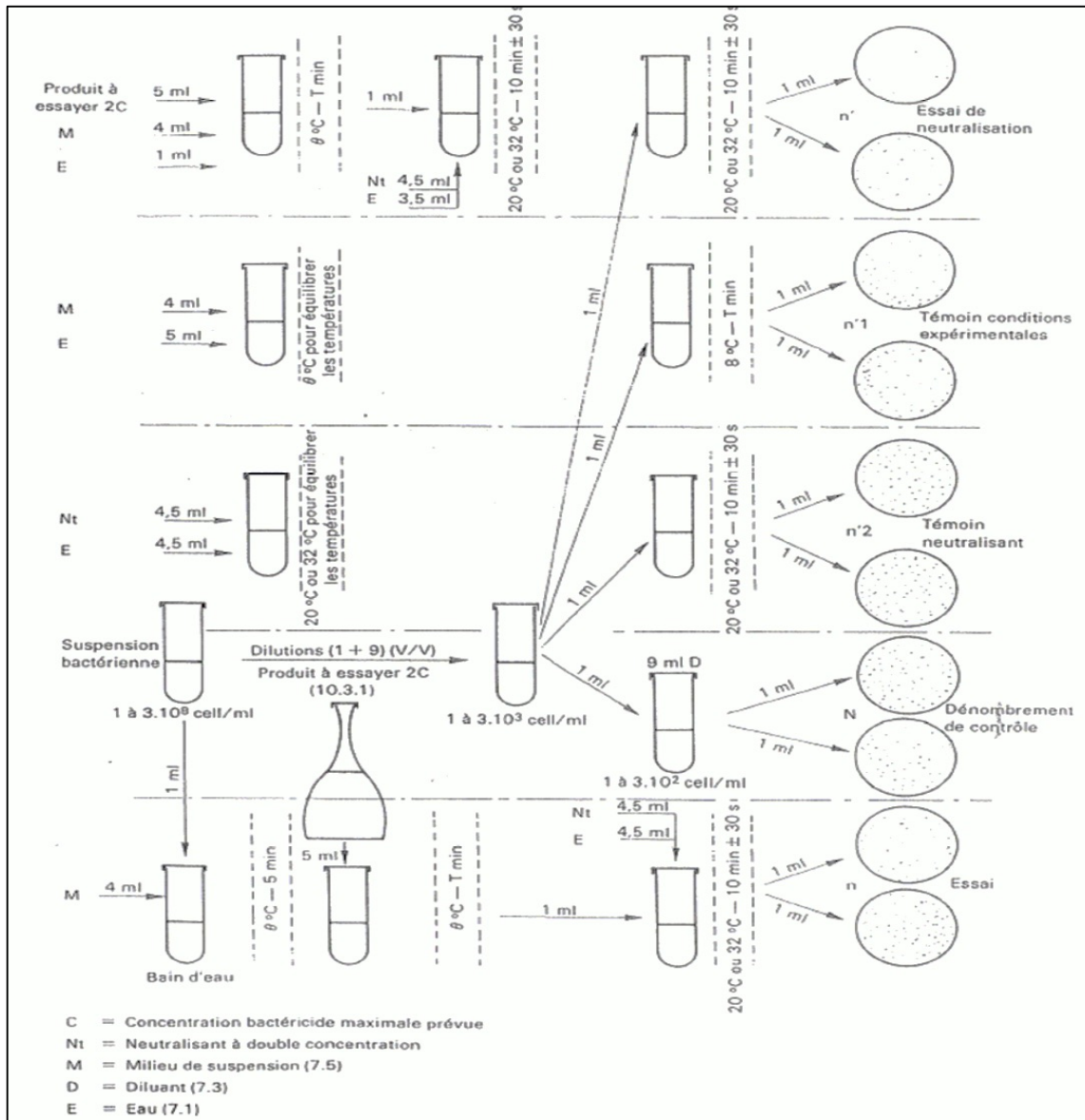


Figure 11 : Essai en suspension pour l'évaluation de l'efficacité bactéricide d'un produit selon la norme AFNOR NFT 72-300

CONCLUSION

Parce que les biofilms constituent un mode de vie privilégié pour les bactéries, une meilleure compréhension des processus impliqués dans leur résistance marquée aux désinfectants est d'une importance cruciale pour leur contrôle. D'après les études examinées dans la présente partie, il est maintenant évident que :

La résistance du biofilm au désinfectant est : (i) intimement liée à la structure du biofilm, (ii) hétérogène au sein de la biostructure et (iii) multifactorielle, résultant d'une accumulation de différents mécanismes.

Compte tenu de cette résistance prouvée par plusieurs études des biofilms aux désinfectants, il est à présent primordial que les normes réglementaires axées sur l'évaluation de l'efficacité d'un désinfectant tiennent compte du « mode de vie » des biofilms.

DEUXIEME PARTIE :
TECHNIQUES ET METHODES
EXPERIMENTALES

I. Souches bactériennes

I.1. Souches des *Escherichia coli*

L'isolement et l'identification des souches a été réalisé au laboratoire de microbiologie et d'hygiène des aliments et de l'environnement de l'Institut Pasteur Maroc. Environ 1000 échantillons des aliments ont été reçus et analysés de plusieurs origines alimentaires (Restauration collective, Industries agroalimentaires). Parmi ces échantillons analysés, 16 échantillons contenaient des charges importantes en *Escherichia coli*.

Après identification par les tests biochimiques (test de Mackenzie ; identification par la galerie Api 20E), Les souches d'*E. coli* ont fait l'objet d'une identification immunologique par « Sérotypage » en vue de rechercher des sérotypes pathogènes.

Douze souches des *Escherichia coli* ont fait l'objet de cette étude. Leurs codifications et leurs sérotypes sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5: Souches des *Escherichia coli*, leurs origines et leurs sérotypes

| Code | Sérotype | | |
|--------------------|----------|-----|--------|
| | O | H | K |
| <i>E. coli</i> 13 | O124 | H8 | K25 |
| <i>E. coli</i> 19 | O114 | H8 | K11 |
| <i>E. coli</i> 38 | O114 | H40 | K11 |
| <i>E. coli</i> 64 | O126 | - | - |
| <i>E. coli</i> 76 | O127 | H40 | K11 |
| <i>E. coli</i> 65 | O126 | H40 | K11 |
| <i>E. coli</i> EI1 | O127 | - | K88 ac |
| <i>E. coli</i> EI2 | O127 | - | K88 ac |
| <i>E. coli</i> EI3 | O127 | - | K88 ac |
| <i>E. coli</i> EI4 | O127 | - | K88 ac |
| <i>E. coli</i> EM3 | O124 | H40 | K11 |
| <i>E. coli</i> EM4 | O126 | H40 | K11 |

I.2. Souches des salmonelles

Les souches des salmonelles ont été également isolées et identifiées des environnements agro-industriels à l'institut pasteur- Maroc par le laboratoire de microbiologie et d'hygiène des aliments et de l'environnement. Sur une série référencée de 27 souches bactériennes de différents sérovars, nous avons choisi 5 souches de salmonelles les plus fréquemment isolées des échantillons analysés à savoir *S. muenster*; *S. newport*; *S. kentucky*; *S. infantis*; *S. m'bandaka* (tableau 6).

Par ailleurs, le sérovar *S. infantis* se classe au premier rang des dix premiers isolats humains de *S. enterica* en Europe depuis 2001 (Galanis et al., 2006). Aussi, d'après le Département de l'Agriculture des Etats Unis (USAD), *S. muenster* représente le 7ème sérotype le plus fréquent des *Salmonella* spp. isolés. (Radke et al., 2002).

De plus, certains sérovares choisis ont été rapporté dans plusieurs travaux comme origine des crises de toxiinfection alimentaires dans plusieurs pays. Nous citons à titre d'exemple :

- Entre 1998 et 2003, trois crises de contaminations alimentaires des tomates ont été associées aux *Salmonella enterica* serovar *newport* (Dong et al. 2003).
- 20% et 65% des cas de contamination des bovins et Poulets est causé par *S. Mbandaka* (Ahvla D, 2011);

De plus, *Salmonella kentucky* présente des résistances à de nombreux antibiotiques, notamment aux fluoroquinolones, actuellement l'un des traitements clés des infections sévères à *Salmonella* (pasteur, 2011).

Tableau 6 : Sérovars des salmonelles

| Souches | Code de conservation |
|---------------------|----------------------|
| <i>S. muenster</i> | S4 |
| <i>S. newport</i> | S8 |
| <i>S. kentucky</i> | S11 |
| <i>S. infantis</i> | S26 |
| <i>S. m'bandaka</i> | S27 |

II. Repiquage et conservation des souches

La conservation des souches identifiées se fait à partir des cultures jeunes de 24h, avec lesquelles est ensemencé de la gélose de conservation en profondeur. Cette dernière présente le minimum d'éléments nutritifs dont a besoin la bactérie pour survivre pendant une durée maximale de 6 mois.

Durant toute la période de la présente étude, nous avons utilisé trois méthodes de conservation en fonction de la période du travail :

- Sur gélose inclinée à 4°C pour une conservation d'une courte période.
- Dans 20% (w /v) de glycérol à -20°C pour une conservation d'une longue période.
- Dans 25% (w /v) de glycérol à -80°C pour un stockage d'une très longue période.

III. Surfaces solides

III.1. Verre

La surface solide sélectionnée pour cette étude est le verre de lame de microscope (Knittel Glazer, Germany). La surface est nettoyée, avant chaque essai d'adhésion, par une solution d'éthanol et l'eau distillée suivi d'une stérilisation.

III.2. Acier inoxydable

Les trois types d'aciers utilisés dans notre étude sont les aciers AISI 316L, 304, 304L. Ils appartiennent à la classe des alliages austénitiques contenant du fer-chrome et nickel avec 12% à 30% de chrome et 7% à 30% de nickel.

Dans notre étude le type 316L contient du molybdène, absent de la composition du 304L et 304, qui lui confère une résistance accrue à la corrosion en milieu chloré. En dehors de cette différence, ils sont en tous points identiques.

La série 300 (fer-chrome-nickel) est recommandée par l'Institut Américain du fer et de l'acier (AISI) pour les surfaces en contact avec les aliments (Sundgren et al., 1985 ; Hayashi et al., 1989).

Ces aciers sont généralement choisis pour leur prix abordable, leur bonne résistance mécanique, leur résistance accrue à la corrosion, également leur forte résistance à l'abrasion (Holah & Thorpe, 1990).

Les supports des aciers inoxydables utilisés dans notre étude sont présentés dans la figure 12.

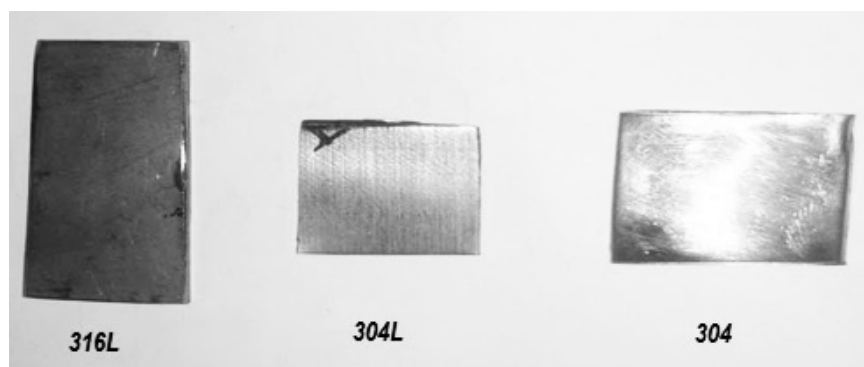


Figure 12 : Supports des aciers inoxydables (316L, 304L, 304) utilisés dans l'étude expérimentale

Il est important de noter que, dans toutes les études réalisées, chaque coupon n'a été utilisé qu'une seule fois afin d'éviter tout changement de surface dû au vieillissement.

IV. Produits de désinfection

Dans la présente étude, le choix des désinfectants et des conditions d'application est basé essentiellement sur ceux recommandées par les sociétés qui commercialisent les désinfectants aux industries agroalimentaires en tenant compte de la réglementation en vigueur. Les

paramètres à prendre en considérations dans l'application d'un désinfectant donnés sont principalement : le matériau, la concentration d'utilisation, l'action mécanique, le temps de contact et la température d'actions.

Dans cette partie, nous avons pris contact avec des sociétés opérant dans le secteur agroalimentaire afin de réaliser leurs protocoles de désinfection, notamment avec l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène, tel qu'ils sont pratiqués dans les ateliers de fabrication.

Les deux désinfectants ont été obtenus auprès de fournisseurs commerciaux. Ils ont été préparés selon les instructions des fabricants. Leurs activités antimicrobiennes sont basées principalement sur l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène.

Le tableau suivant est un exemple de protocoles de désinfection utilisé dans une fromagerie dont on a pris contact (Tableau 7).

Tableau 7 : Modes d'utilisations de l'hypochlorite de sodium et peroxyde d'hydrogène dans une fromagerie

| Nom du Produit | Role | Usage prévu | Concentrations | Dilution | Temps de contact | Méthode d'utilisation | Produit de Remplacement en cas de rupture |
|------------------------|--|---|----------------|----------------|------------------------------|--|---|
| Hypochlorite de sodium | Désinfectant surface ouvertes, sol et murs | désinfection du des paillasses, laboratoire sol et murs couloirs, vestiaire | 12° Cl | 25l/125l d'eau | 15 minutes | Mettre en solution dans l'eau claire ou dure | TC 86 |
| Peroxyde d'hydrogène | désinfectant fort circuits de pasteurisation | Désinfection pour les circuits fermés | 2,5% | 2,5l/100l | 15 à 20 min en circuit fermé | Mettre en solution dans l'eau froide et faire circuler dans le circuit de pasteurisation, écrémage et foltration | VT6 |

Par ailleurs, Le tableau 8 résume les conditions d'utilisation de deux produits de désinfection choisi dans notre étude.

Tableau 8 : Produits de désinfection et leurs modes d'emploi

| Produits de désinfection | Mode d'emploi recommandé | Applications |
|--|--|---|
| <p>Hypochlorite de sodium (Eau de javel)</p> <p>(Chambre Syndicale Nationale de l'Eau de Javel, 2009)</p> | <ul style="list-style-type: none"> Les solutions d'au moins 12°Chl sont employées comme désinfectant notamment pour l'eau des piscines, pour les surfaces en établissements de santé et pour les équipements de la production agroalimentaire Dans le milieu domestique, on utilise des solutions ayant des teneurs de 4 ou 6°Chl. | <ul style="list-style-type: none"> L'Eau de Javel doit être utilisée après nettoyage avec un produit détergent. L'Eau de Javel doit être utilisée seule (pas de mélange avec d'autres produits d'entretien). L'Eau de Javel doit être diluée dans l'eau froide. Rincer obligatoirement les surfaces en inox après javellisation. Temps de contact recommandé (5min à 15min) sans dépasser le temps de contact maximum |
| <p>Peroxyde d'hydrogène</p> <p>(Fiche de produit, ECOLAB)</p> | <ul style="list-style-type: none"> Concentration : 0,25 à 3 % en fonction du type d'équipement à nettoyer. <p>Température : ambiante ou 60°C Temps de contact : 5 à 20 minutes</p> <ul style="list-style-type: none"> <u>Application spécifique</u> : dans les conditionnements aseptiques, on applique : Concentration : 1,7 à 3 %. Température : < 60°C. <p>Temps de contact : 1 min 30 sec minimum</p> | <ul style="list-style-type: none"> Pour la désinfection de tanks de stockage et de transport, dans le cadre d'un nettoyage automatique, ajouté, après le cycle de nettoyage, 0.5 % de P3-oxonia à l'eau courante de rinçage pendant les premières 1 à 2 minutes puis rincer. Pour la désinfection de tanks par injection de vapeur, ajouter P3-oxonia à la vapeur, à partir d'une solution d'environ 5 % de manière à ce que la vapeur contienne à peu près 0.1 à 0.3 % de P3-oxonia. Pour la désinfection de tanks, d'installations de fabrication et de conditionnement, de tables de travail et de moules à fromage, traiter à froid tous ces objets nettoyés et rincés, à l'aide d'une solution à 0.5 - 3.0 % de P3-oxonia. |

En se basant sur les données du tableau 8, nous avons résumés les conditions expérimentales choisis pour la présente étude dans le tableau 9.

Tableau 9 : Conditions de l'utilisation des désinfectants

| Désinfectants | Concentrations étudiées | Temps de contact étudiés | Températures étudiées |
|------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Hypochlorite de sodium | 6°-8°-10°-12°-14°-16°-18° Chl | 3min-5min-10min-15min | Ambiante |
| Peroxyde d'hydrogène | 0,75% - 1,5% - 3% | 3min-5min-10min-15min | Ambiante |

* °Chl : Le degré chlorométrique de Gay-Lussac correspond au nombre de litres de chlore gazeux qu'un litre de solution ou d'extrait est capable de dégager en présence d'un acide dans des conditions normales de température et de pression. Le degré chlorométrique est utilisé dans les préparations des solutions de l'hypochlorite de sodium (solution de Javel) et le Dakin.

*Eau de Javel titre au minimum à 12° chlorométriques (38 g/l, 3,8% ou 38 000 ppm en chlore actif). Elle est préparée par dilution de l'extrait de Javel (48°Chl) au quart (un berlingot de 250 ml + 750 ml d'eau):

V. Protocole expérimental de la caractérisation physico-chimique des micro-organismes et des supports

V.1. Principe de caractérisation des propriétés physico-chimiques par angle de contact

La mesure d'angle de contact rend compte de l'aptitude d'un liquide à s'étaler sur une surface par mouillabilité. La méthode consiste à mesurer l'angle de la tangente du profil d'une goutte d'un liquide déposée sur le support, avec la surface de ce support. La mesure de l'angle de contact permet d'accéder à l'énergie libre de surface. Elle permet aussi la discrimination de la nature polaire ou apolaire des interactions à l'interface liquide solide. On peut ainsi déduire le caractère hydrophile ou hydrophobe d'une surface.

$$(1 + \cos \theta) \gamma_L = -\Delta G_{SL}^{TOT} = -\Delta G_{SL}^{LW} - \Delta G_{SL}^{AB}$$

$$(1 + \cos \theta) \gamma_L = 2 \left(\sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^+ \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \gamma_L^+} \right)$$

Figure 13: Energies intervenant dans la mesure de l'angle de contact

- Si nous utilisons l'eau comme liquide de mesure d'angle de contact, nous pouvons déduire le caractère hydrophobe (grand angle, faible énergie de surface) ou hydrophile (petit angle, grande énergie de surface) de la surface.
- Si nous utilisons d'autres liquides comme le formamide et le diiodométhane, nous pouvons accéder à l'énergie libre de la surface, tout en discriminant les composantes polaires ou apolaires de cette énergie en utilisant le modèle de Good Van Oss (Van Oss et al., 1988a).

Lorsqu'une goutte de liquide est déposée sur une surface solide plane, l'angle entre la tangente à la goutte au point de contact et la surface solide est appelé angle de contact θ (Figure.13). Ce dernier est déterminé selon l'équation suivante :

$$\text{Cos } \theta = -1 + 2(\gamma_s^{\text{LW}} \gamma_L^{\text{LW}})^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_s^+ \gamma_L^-)^{1/2} / \gamma_L + 2(\gamma_s^- \gamma_L^+)^{1/2} / \gamma_L$$

γ_s^{LW} : Composante de Lifshitz- Van der Waals de la surface;

γ_L^{LW} : Composante de Lifshitz- Van der Waals de liquide ;

γ_s^+ : Composante d'accepteur d'électrons de la surface ;

γ_L^+ : Composante d'accepteur d'électrons de liquide ;

γ_s^- : Composante de donneur d'électrons de la surface ;

γ_L^- : Composante de donneur d'électrons de liquide.

Les angles de contact ont été déterminés avec trois liquides purs de caractéristiques énergétiques connues (Tableau 10) : eau, diiodométhane et formamide.

Tableau 10: Composantes Van der waals, accepteur d'électrons et donneur d'électrons de l'énergie libre des trois liquides utilisés dans la méthode des angles de contacts (Van Oss, 1995)

| Liquide | γ^{LW} (mJ.m ⁻²) | γ^+ (mJ.m ⁻²) | γ^- (mJ.m ⁻²) |
|---|--|----------------------------------|----------------------------------|
| Eau (H ₂ O) | 21.6 | 25.4 | 25.4 |
| Formamide (CH ₃ NO) | 38.7 | 2.3 | 39.4 |
| Diiodométhane (CH ₂ I ₂) | 50.5 | 0.7 | 0.0 |

Les caractéristiques physico-chimiques de la surface des micro-organismes sont obtenues à partir de mesures d'angles de contact à l'aide d'un goniomètre (GBX, France) (Figure 14).

En pratique, une goutte de liquide des solvants est déposée à l'aide d'une seringue sur la surface de l'échantillon à analyser.

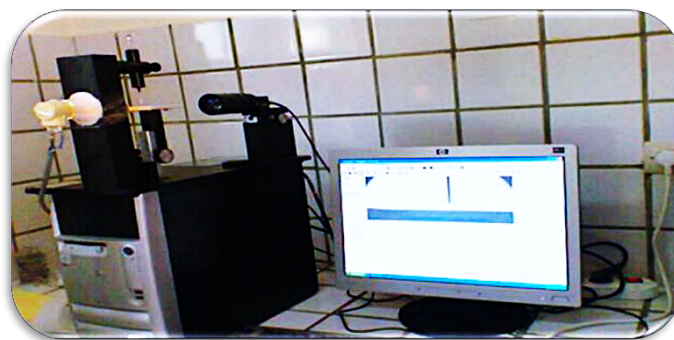


Figure 14 : Appareil d'angle de contact

V.2. Caractérisation physico-chimique des surfaces des supports solides

Les supports du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L sont nettoyés, avant de mesurer l'angle de contact, par trempage pendant 15 min dans une solution d'éthanol à 95 % suivi de six rinçages à l'eau distillée stérile et d'une stérilisation par autoclavage (15 min à 120°C). Trois à six mesures d'angle de contact ont été réalisées sur chaque échantillon en utilisant 3 solvants : eau distillée, formamide et diiodométhane.

V.3. Caractérisation physico-chimique des souches microbiennes

Les bactéries sont incubées pendant 24 heures à 37°C dans le milieu liquide de Luria Bertani. Après 24h d'incubation, les cellules sont récoltées par centrifugation à 8400g pendant 15 min. Les cellules sont lavées par une solution de KNO_3 0,1 M par une succession de deux centrifugations pour éliminer les résidus du milieu de culture puis remises en suspension dans du KNO_3 0,1 M et la densité optique de la suspension bactérienne est ajustée entre 0,7 et 0,8 (Hamadi and Latrache, 2008).

Les propriétés physico-chimiques de la surface bactérienne et de la surface solide (hydrophobicité, le caractère donneur d'électrons /accepteur d'électrons) sont déterminées par des mesures de l'angle de contact (GBX France) (Busscher et al., 1984). Brièvement, une suspension de 10ml de cellules d'*E. coli* a été déposée sur un filtre d'acétate de cellulose de 0.45 μm (Sartorius) lavée préalablement par 10 ml d'eau distillée pour le mouillage puis filtré au moyen de la pression négative jusqu'à l'obtention de couche mince de cellules bactériennes. Les filtres humides ont été placés soigneusement sur un support de verre et laissés sécher à température ambiante pendant 30 min. Trois à six mesures d'angle de contact ont été réalisées sur chaque échantillon en utilisant l'eau, le formamide et le diiodométhane sur ces surfaces (Tableau 10).

V.4. Calcul de l'énergie de surface

V.4.1. Calcul de l'énergie d'interaction avec l'eau ΔG_{wi}

La mesure de l'angle de contact peut être considérée comme une méthode qualitative pour mesurer l'hydrophobicité de la surface (angle de contact vis-à-vis de l'eau (θ_w)) ou quantitative (Energie libre d'interaction, ΔG_{wi}).

D'après Vogler (1998), la surface est considérée hydrophobe si θ_w est supérieur à 65° et hydrophile si θ_w est inférieur à 65° . Basé sur l'approche de (Van Oss et al., 1988a, Van Oss, 1995), il est possible de déterminer le degré d'hydrophobicité d'une substance (i) vis-à-vis de l'eau (w). Il est exprimé en unité internationale (mJ.m^{-2}). La surface peut être classée hydrophile quand le ΔG_{iwi} est positive et hydrophobe quand le ΔG_{iwi} est négative.

L'énergie libre d'interaction entre les molécules de surface d'une substance(i) immergée dans l'eau (w) est donnée par l'équation suivante :

$$\Delta G_{iwi} = -2 \left((\gamma_i^{LW})^{1/2} - (\gamma_w^{LW})^{1/2} \right)^2 + 2 \left((\gamma_i^+ \gamma_i^-)^{1/2} + (\gamma_w^- \gamma_w^+)^{1/2} - (\gamma_i^+ \gamma_w^-)^{1/2} - (\gamma_w^+ \gamma_i^-)^{1/2} \right)$$

γ_i^{LW} : Composante de Lifshitz- Van der Waals de la surface;

γ_w^{LW} : Composante de Lifshitz- Van der Waals de l'eau ;

γ_i^+ : Composante d'accepteur d'électrons de la surface ;

γ_w^+ : Composante d'accepteur d'électrons de l'eau ;

γ_i^- : Composante de donneur d'électrons de la surface ;

γ_w^- : Composante de donneur d'électrons de l'eau.

V.4.2. Détermination du caractère donneur d'électrons (γ^-) / accepteur d'électrons (γ^+)

Les composantes de Lifshitz–Van der Waals (γ^{LW}), donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) de la surface bactérienne et de la surface des supports ont été déterminées à partir de l'équation de Yong- Van Oss et al. (1988a) décrite précédemment dans le principe de l'angle de contact (voir V.1)

VI. Protocol expérimental de l'adhésion microbienne

VI.1. Préparation des suspensions bactériennes

Les cellules bactériennes sont suspendues dans une solution de KNO_3 à forces ioniques différentes (KNO_3 0,001M et 0,1M) et ajustées à une densité optique entre 0,7 et 0,8 (approximativement 10^8 CFU.ml⁻¹) à l'aide d'un spectrophotomètre à 405 nm (Hamadi et al., 2005).

VI.2. Test d'adhésion sur le verre

Les essais de l'adhésion en conditions statiques sont réalisés par sédimentation à 30°C pour les suspensions bactériennes. Le temps d'adhésion réalisé dans nos études est 3 heures et 18heurs de contact selon les conditions d'étude. Les cellules non adhérees sont éliminées en rinçant manuellement et délicatement le substrat trois fois avec de l'eau distillée stérile (HERALD and ZOTTOLA, 1988, Hamadi et al., 2005). Nous procédons à la fixation du frottis soit avec de l'éthanol à 90° (5 minutes) puis on enflamme la lame ou on passe directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen. Ensuite, nous procédons à la

coloration au Cristal violet (colorant basique) pendant 2 à 3 minutes. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau distillée.

VII. Quantification d'adhésion des micro-organismes par le logiciel Matlab®

La quantification de l'adhésion microbienne se fait par différentes méthodes. Une méthode consiste à provoquer le détachement des cellules adhérentes d'une plaque de dimensions connues dans un volume de liquide connu et compter ces cellules dans le volume total de la suspension (Briandet et al., 1999). L'autre méthode est basée sur l'analyse de l'image de la microscopie à épifluorescence ou de microscope électronique à balayage (Mozes and Rouxhet, 1987). Cette méthode consiste à évaluer le pourcentage de la surface occupée. Récemment, Hamadi et al. (2005) ont utilisé le programme Matlab pour déterminer le nombre de cellules adhérentes et le pourcentage de la surface occupée par ces cellules.

Nous avons choisi de quantifier l'adhésion microbienne par l'estimation du pourcentage de la surface occupée par les bactéries car l'adhésion de la plupart de ces bactéries est accompagnée d'une production de substances exopolymères. La présence de ces substances rend la détermination du nombre de cellules adhérentes un peu difficile notamment dans le cas de la formation des biofilms dû à la présence d'une importante masse de ces substances exopolymères. Dans notre cas, le fait qu'on s'est limité à l'étape de l'adhésion microbienne diminue la marge d'erreur de cette méthode.

Le pourcentage est déterminé en multipliant le rapport de la surface occupée par rapport à la surface totale par 100 (% de la surface occupée = (Surface occupée/surface totale) *100).

La quantification de l'adhésion est réalisée à l'aide d'un programme développé sur logiciel Matlab® similaire à celui réalisé par l'équipe de recherche « Laboratoire de Bioprocédés et Biointerfaces » à la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal (Hamadi et al., 2005).

Les images microscopiques obtenues sont converties en images à deux contrastes distinctifs (Vert – Blanc). Les zones correspondant à la colonisation des micro-organismes sont facilement décelées par rapport à l'image d'origine. Le pourcentage colonisé est obtenu en effectuant le rapport des pixels correspondant aux micro-organismes sur le nombre total de pixels.

VIII. Etude de l'adhésion théorique : Calcul de l'énergie libre d'interaction ΔG_{Total}

L'énergie libre totale d'interaction entre les bactéries (B) et le substratum (S) dans un l'eau (L) est considérée comme la somme de la composante de Van der Waals ($\Delta G_{\text{BLS}}^{\text{LW}}$), de la composante acide –base ($\Delta G_{\text{BLS}}^{\text{AB}}$) et de la composante électrostatique ($\Delta G_{\text{BLS}}^{\text{EL}}$) proposées par van Oss (Van Oss, 1993) :

$$\Delta G_{\text{BLS}}^{\text{Total}} = \Delta G_{\text{BLS}}^{\text{LW}} + \Delta G_{\text{BLS}}^{\text{AB}} + \Delta G_{\text{BLS}}^{\text{EL}}$$

$$\text{Où } \Delta G_{\text{BLS}}^{\text{LW}} = ((\gamma_{\text{B}}^{\text{LW}})^{1/2} - (\gamma_{\text{S}}^{\text{LW}})^{1/2})^2 - ((\gamma_{\text{B}}^{\text{LW}})^{1/2} - (\gamma_{\text{L}}^{\text{LW}})^{1/2})^2 - ((\gamma_{\text{S}}^{\text{LW}})^{1/2} - (\gamma_{\text{L}}^{\text{LW}})^{1/2})^2$$

$$\text{et } \Delta G_{\text{BLS}}^{\text{AB}} = 2[(\gamma_{\text{L}}^+)^{1/2} [(\gamma_{\text{B}}^-)^{-1/2} + (\gamma_{\text{S}}^-)^{-1/2} - (\gamma_{\text{L}}^-)^{-1/2}] + (\gamma_{\text{L}}^-)^{1/2} [(\gamma_{\text{B}}^+)^{1/2} + (\gamma_{\text{S}}^+)^{1/2} - (\gamma_{\text{L}}^+)^{1/2}] - (\gamma_{\text{B}}^- \gamma_{\text{S}}^+)^{1/2} - (\gamma_{\text{B}}^+ \gamma_{\text{S}}^-)^{1/2}]$$

$\Delta G_{\text{BLS}}^{\text{EL}}$ est négligeable car les tests d'adhésion sont réalisés à une force ionique élevée 0,1M (Gallardo-Moreno et al. 2004).

L'adhésion bactérienne est favorisée si $\Delta G_{\text{BLS}}^{\text{Total}}$ est négatif, par contre, l'adhésion microbienne est thermodynamiquement défavorisée si $\Delta G_{\text{BLS}}^{\text{Total}}$ est positif.

IX. Protocoles expérimentaux de désinfection

IX.1. Désinfection par l'hypochlorite de sodium

La présente partie de l'étude a été réalisée avec de l'hypochlorite de sodium concentrée 48 °Chl (contenant 12,9% de chlore actif, pH = 12,5) fréquemment utilisé dans les industries alimentaires. Nous avons dilué la solution concentrée d'hypochlorite de sodium dans de l'eau distillée stérile avant chaque utilisation. Les concentrations étudiées sont : 6 °, 8 °, 10 °, 12 °, 14 °, 16 °, 18 ° Chl. Chaque coupon n'a été utilisé qu'une seule fois.

IX.1.1. Traitements des supports par l'hypochlorite de sodium

Dans l'étude des changements des propriétés de surface des supports de verre et des aciers inoxydables (304,304L, 316L) par les désinfectants, les coupons ont été soumis à la procédure de désinfection suivante : nous avons traité les supports avec différentes concentrations d'hypochlorite de sodium (6 °, 8 °, 10 °, 12 °, 14 °, 16 °, 18 °Chl) par immersion pendant 15min (Un cycle de traitement), puis rincé six fois avec de l'eau distillée et séché à l'air libre.

IX.1.2. Traitement des supports après adhésion microbienne par l'hypochlorite de sodium

Avant d'appliquer les protocoles de désinfection, nous avons procédé à l'adhésion microbienne des souches des *E. coli* et des *salmonelles* (voir protocole expérimentale d'adhésion microbienne à 3h de contact). Les supports avec les cellules adhérentes ont été traités par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6 °, 8 °, 10 °, 12 °, 14 °, 16 °, 18 °Chl) par immersion à différents temps d'application (3min-5min-10min-15min) (Un cycle de traitement), puis rincé six fois avec de l'eau distillée.

Les cellules qui restent adhérentes après désinfection des supports ont été fixées par la chaleur et nous avons procédé à une coloration par le cristal violet.

Nous avons réalisé les observations par microscope optique couplé au camera à un grossissement de (Gx400) avant et après désinfection.

Afin de vérifier que les bactéries persistantes après désinfection sont des bactéries vivantes, nous avons réalisé des tests de confirmation en appliquant les supports avec les cellules persistantes sur le milieu de culture LB. Après incubation à 37°C pendant 24h, nous avons vérifié la présence des bactéries en milieu de culture.

IX.2. Désinfection par le peroxyde d'hydrogène

Dans cette partie de l'étude, nous avons dilué le désinfectant à base de peroxyde d'hydrogène à trois concentrations fréquemment utilisées dans les industries alimentaires (0,75% - 1,5% - 3%). Les concentrations ont été préparées par dilution avec de l'eau distillée stérile avant l'utilisation. Chaque coupon n'a été utilisé qu'une seule fois.

IX.2.1. Traitements des supports par le peroxyde d'hydrogène

Dans l'étude des changements des propriétés de surface des supports de verre et des aciers inoxydables par les désinfectants, les coupons ont été soumis aux procédures de désinfection suivante : nous avons traité les supports avec différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène (0,75% - 1,5% - 3%) par immersion pendant 15min (Un cycle de traitement), puis rincé six fois avec de l'eau distillée.

IX.2.2. Traitements des supports après adhésion microbienne par le peroxyde d'hydrogène

Avant d'appliquer les protocoles de désinfection, nous avons procédé à l'adhésion microbienne des souches des *E. coli* et des *salmonelles* (voir protocole expérimentale d'adhésion microbienne à 3h de contact). Les supports avec les cellules adhérentes ont été traités par le peroxyde d'hydrogène à différentes concentrations (0,75% - 1,5% - 3%) par immersion à différents temps d'application (3min-5min-10min-15min) (Un cycle de traitement), puis rincé six fois avec de l'eau distillée.

Les cellules qui restent adhérentes après désinfection des supports ont été fixées par la chaleur et nous avons procédé à une coloration par le cristal violet.

Nous avons réalisé les observations par microscope optique couplé au camera à un grossissement de (Gx400) avant et après désinfection.

Afin de vérifier que les bactéries persistantes après désinfection sont des bactéries vivantes, nous avons réalisé des tests de confirmation en appliquant les supports avec les cellules persistantes sur le milieu de culture LB. Après incubation à 37°C pendant 24h, nous avons vérifié la présence des bactéries en milieu de culture.

X. Mesures topographiques de la rugosité des supports

X.1. Microscopie à force atomique (AFM)

La Microscopie à Force Atomique (AFM) a été utilisée pour la première fois pour l'analyse topographique tridimensionnelle des surfaces, avec une très haute résolution pouvant aller jusqu'à la résolution atomique. Cette technique est aussi capable de donner des

informations sur les propriétés de surface : propriétés viscoélastiques, mesure de forces d'adhésion et possibilité d'imager les composantes magnétiques ou électriques. Les études peuvent être réalisées sur tous types d'échantillons : métaux, polymères, molécules adsorbées, échantillons sous forme de pièces, de films, de fibres, de poudres, que ce soit à l'air, en atmosphère contrôlée ou en milieu liquide.

Dans nos études, la surface des supports solides a été étudiée à l'aide du Microscope à Force Atomique de référence : Nanosurf Easy Scan 2. Nous avons utilisé ce microscope pour faire des observations et des mesures quantitatives de la topographie des surfaces des supports des aciers inoxydables. Ainsi, nous avons calculé leur rugosité arithmétique moyenne (R_a).

Le paramètre R_a est le plus utilisé pour décrire la rugosité d'une surface (Verran et al., 2000). Il est calculé de différent coté pour chaque surface. Les dimensions réalisées sont de l'ordre de 50 μm .

Ce paramètre correspond à la moyenne arithmétique, calculée sur la longueur de base, de la valeur absolue de l'ordonnée Z entre chaque point du profil de l'axe OX (Figure 15).

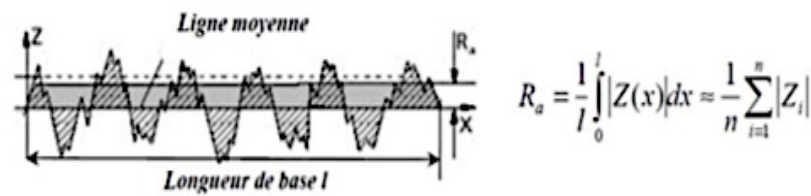


Figure 15. R_a Ecart moyen arithmétique du profil

La rugosité de surface a été calculée à partir de trois lectures différentes sur chaque surface.

➤ Principe de l'AFM

Le principe de l'AFM est de mesurer les différentes forces d'interaction entre une pointe idéalement atomique fixée à l'extrémité d'un bras de levier et les atomes de la surface d'un matériau (forces de répulsion ionique, forces de van der Waals, forces électrostatiques, forces de friction, forces magnétiques...). La déflexion du cantilever est suivi en positionnant un faisceau laser sur la face supérieure du cantilever, le faisceau est réfléchi sur un miroir puis tombe sur des photo-détecteurs qui enregistrent le signal lumineux. Les déplacements des axes x , y , z se font grâce à une céramique piézo-électrique. Le balayage en x , y peut aller de quelques nanomètres à 140 μm . La sensibilité en z étant de la fraction de nanomètre et le déplacement en z peut aller jusqu'à 3.7 μm .

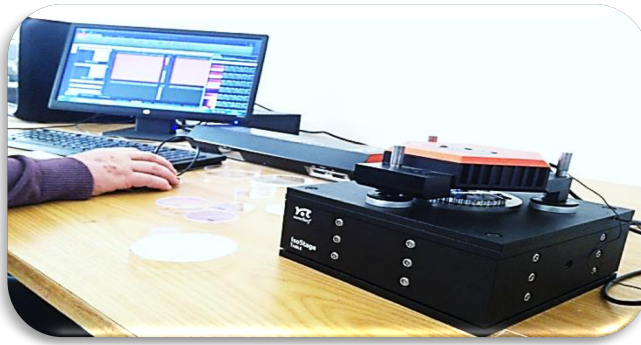


Figure 16 : Appareil de l'AFM

X.2. Rugosimètre

Nous avons évalué la rugosité arithmétique moyenne (R_a) du verre à l'aide d'un rugosimètre « Federal Surf ». Chaque mesure a été répétée au moins 3 fois pour chaque support afin de vérifier la reproductibilité des résultats. Avant chaque utilisation, l'appareil a été étalonné à l'aide des surfaces dont la rugosité est bien connue.

XI. Analyses statistiques

Toutes les analyses physicochimiques et les tests d'adhésion ont été effectués avec trois à six répétitions. En outre, les études de corrélation ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS 20.0. Le niveau de signification statistique était de 0,05 tout au long de l'étude.

Les types de régression étudiée, entre les propriétés physicochimiques des surfaces (bactérie ou substrat) et les pourcentages d'adhésion expérimentale, sont de type linéaire multiple ou polynomiale (non linéaire) :

- La **régression linéaire multiple** est une méthode de régression mathématique étendant la régression linéaire simple pour décrire les variations d'une variable endogène associée, dite expliquée, aux variations de plusieurs variables exogènes, dites explicatives.

Étant donné un échantillon, on cherche à expliquer, avec le plus de précision possible, les valeurs prises par Y_i , dite *variable endogène*, à partir d'une série de variables explicatives X_{i1}, \dots, X_{ip} . Le modèle théorique, formulé en termes de variables aléatoires, prend la forme :

$$Y_i = a_0 + a_1 X_{i1} + a_2 X_{i2} + \dots + a_p X_{ip} + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, n$$

où ε_i est l'erreur du modèle qui exprime l'information manquante dans l'explication linéaire des valeurs de Y_i à partir des X_{i1}, \dots, X_{ip} (problème de spécifications, variables non prises en compte, etc.). Les coefficients a_0, a_1, \dots, a_p sont les paramètres à estimer.

- La **régression polynomiale** est une analyse statistique qui décrit la variation d'une variable aléatoire expliquée à partir d'une fonction polynomiale d'une variable aléatoire explicative. C'est un cas particulier de régression linéaire multiple, où les observations sont construites à partir des puissances d'une seule variable.

Si l'on appelle (X_i, Y_i) la i -ème réalisation du couple de variables aléatoires, on recherche le polynôme :

$$P_n(x) = a_n x^n + a_{n-1} x^{n-1} + \dots + a_1 x + a_0,$$

La régression linéaire est une régression polynomiale de degré 1.

TROISIEME PARTIE :

RESULTATS ET DISCUSSIONS

PREMIERE PARTIE :

L'adhésion des microorganismes aux supports est un phénomène indésirable dans tous les secteurs. La présence des microorganismes adhérents représente une source de contamination qui peut être l'origine des effets néfastes sur le plan d'hygiène et économique.

En industries agroalimentaires, l'acier inoxydable est très couramment utilisé dans les installations et les équipements en contact d'aliment. Dans ce sens, nous nous sommes fixé comme objectif de réaliser une étude comparative en terme de risque de biocontamination de trois types d'acier inoxydable (304,304L et 316L) en évaluant leurs aptitudes à l'adhésion microbienne. Aussi, nous avons réalisé cette étude sur douze souches d'*Escherichia coli* et de cinq salmonelles pathogènes, isolées d'un environnement agroalimentaire.

Pour ce, nous avons caractérisé, de point de vue physicochimique, les surfaces cellulaires et celles des substrats. Aussi, nous avons évalué le potentiel adhésif de ces souches sur les supports étudiés. De plus, nous avons étudié l'effet du milieu environnant et le temps de contact sur la capacité d'adhésion de ces bactéries avec un support modèle (verre).

Les chapitres de cette partie sont organisés comme suit :

- ☞ *Chapitre I. Caractérisation de la surface cellulaire des souches microbienne et de la surface des substrats*
- ☞ *Chapitre II. Etude de l'adhésion prédictive des Escherichia coli et des salmonelles sur le verre et trois types d'acier inoxydable 304, 304l et 316l*
- ☞ *Chapitre III. Etude de l'adhésion expérimentale des micro-organismes en fonction de du temps de contact et de la force ionique*

CHAPITRE I : CARACTERISATION DE LA SURFACE CELLULAIRE DES SOUCHES MICROBIENNES ET DE LA SURFACE DES SUBSTRATS

INTRODUCTION

Dans son environnement naturel, la majorité des micro-organismes vit à l'état adhérent aux surfaces biotiques ou abiotiques. Cette dualité micro-organisme – surface est conditionnée par les propriétés du substrat, de la surface bactérienne, et l'effet de l'environnement.

En industrie agro-alimentaire, la présence des microorganismes adhérents aux supports représente une source de contamination qui peut se traduire par l'altération des produits alimentaires, et être dans certains cas à l'origine de toxi-infections alimentaires (Zottola and Sasahara, 1994). Par ailleurs, comme d'autres pathogènes, les bactéries du genre *Escherichia coli* et *Salmonella* peuvent envahir l'environnement du secteur d'industrie agro-alimentaire, non seulement par le biais d'une matière première contaminée, mais aussi par les manipulateurs des aliments (Kumar et Anand, 1998 ; Norwood et Gilmour, 2000 ; Schlegelova et Karpiskova, 2007).

De nombreuses études ont rapporté que les propriétés physico- chimiques de la surface bactérienne sont impliquées dans plusieurs phénomènes inter-faciaux comme l'adhésion microbienne. Ces propriétés comprennent l'hydrophobicité, la charge électrostatique et le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à déterminer l'hydrophobicité et le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons des surfaces d'un ensemble de souches d'*Escherichia coli* et des *salmonelles* d'origine alimentaire isolées par l'Institut Pasteur de Casablanca de plusieurs environnements agroalimentaires (industries, restaurant.).

Nous avons également étudié l'effet de deux forces ioniques (0,1M ; 0,001M) sur les propriétés de surface cellulaire des souches étudiées. Les résultats de cette caractérisation cellulaire en fonction de la force ionique, nous permettront dans le chapitre III, d'étudier l'adhésion bactérienne expérimentale en fonction du milieu environnant notamment, la force ionique.

Nous avons également caractérisé la surface des supports du verre et de trois types d'aciers inoxydables couramment utilisés en industries agroalimentaire (304 ; 304L ; 316L). La rugosité de surface de ces derniers a été déterminée par la microscopie à force atomique (AFM).

I. Caractérisations physicochimiques des surfaces des souches *d'Escherichia coli* d'origine alimentaire

Les résultats de mesure de l'angle de contact des *Escherichia coli*, leurs énergies libre d'interaction (ΔG_{iwi}), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et les caractères donneur (γ^-) /accepteur d'électrons (γ^+) des surfaces cellulaires des *Escherichia coli* sont résumés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Caractérisation physicochimique des surfaces des douze *Escherichia coli* par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants

| Souches | Angle de contact (°) | | | Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) en (mJm^{-2}) | | | ΔG_{iwi} (mJm^{-2}) |
|--------------------|----------------------|------------|------------|--|------------|------------|---------------------------------|
| | Θ_w | Θ_f | Θ_d | γ^{LW} | γ^+ | γ^- | |
| <i>E. coli EI1</i> | 99,8 (1,2) | 78,2 (3,2) | 46,1 (4,0) | 36,3 | 0,5 | 1,4 | -70,7 |
| <i>E. coli 38</i> | 93,7 (0,6) | 70,8 (0,3) | 35,0 (3,2) | 41,9 | 0,4 | 2,3 | -68,5 |
| <i>E. coli EM3</i> | 77,5 (1,5) | 66,7 (1,7) | 53,7 (2,0) | 32,0 | 0,2 | 13,8 | -26,1 |
| <i>E. coli 64</i> | 74,0 (3,2) | 63,3 (2,8) | 46,8 (2,0) | 35,9 | 0,1 | 15,2 | -25,0 |
| <i>E. coli 19</i> | 74,2 (3,4) | 63,8 (4,6) | 64,6 (1,4) | 25,8 | 0,6 | 14,9 | -20,7 |
| <i>E. coli EM4</i> | 69,4 (2,3) | 84,2 (2,0) | 42,2 (3,6) | 38,3 | 7,0 | 45,8 | 11,8 |
| <i>E. coli 13</i> | 54,1 (1,4) | 53,6 (1,2) | 45,4(0,9) | 36,7 | 0,0 | 35,3 | 13,4 |
| <i>E. coli 76</i> | 56,5 (3,0) | 57,8 (2,0) | 64,9 (2,2) | 25,6 | 0,6 | 35,1 | 14,6 |
| <i>E. coli EI4</i> | 75,3 (3,5) | 92,0 (4,0) | 64,2 (4,3) | 26,1 | 4,8 | 42,7 | 16,6 |
| <i>E. coli EI3</i> | 33,2 (0,9) | 34,5 (5,1) | 73,4 (1,0) | 20,9 | 5,1 | 46,1 | 19,3 |
| <i>E. coli EI2</i> | 42,5 (2,7) | 44,2 (2,3) | 65,6 (4,8) | 25,2 | 1,9 | 42,6 | 21,3 |
| <i>E. coli 65</i> | 51,4 (1,4) | 74,3 (0,8) | 64,9 (1,3) | 25,6 | 1,3 | 66,9 | 48,6 |

* L'écart-type est donné entre parenthèse

Θ_w : Angle de contact avec l'eau

Θ_f : Angle de contact avec formamide

Θ_d : Angle de contact avec diiodométhane ;

➤ Hydrophobicité des surfaces cellulaires des *Escherichia coli*

L'angle de contact vis-à-vis de l'eau (θ_w) est utilisé comme une méthode qualitative pour mesurer l'hydrophobicité de la surface. D'après Vogler (1998), la surface est considérée hydrophobe si θ_w est supérieur à 65° et hydrophile si θ_w est inférieur à 65°.

En se basant sur l'approche de (Van Oss et al., 1988a, Van Oss, 1995), il est possible de déterminer le degré d'hydrophobicité quantitative d'une surface (Energie libre d'interaction, ΔG_{iwi}). Cette dernière est exprimée en unité internationale ($mJ.m^{-2}$). La surface

peut être classée hydrophile quand le ΔG_{iwi} est positive et hydrophobe quand le ΔG_{iwi} est négative.

L'énergie libre d'interaction entre les molécules de surface (i) plongées dans l'eau (w) est donnée par l'équation suivante :

$$\Delta G_{iwi} = -2\gamma_{iw} = -2 \left((\gamma_i^{LW})^2 - (\gamma_w^{LW})^2 + 2 \left((\gamma_i^+ \gamma_i^-)^{1/2} + (\gamma_w^- \gamma_w^+)^{1/2} - (\gamma_i^+ \gamma_w^-)^{1/2} - (\gamma_w^+ \gamma_i^-)^{1/2} \right) \right)$$

Van Oss (1988, 1995)

γ_i^{LW} : Composantes de Lifshitz- Van der Waals de la surface;

γ_w^{LW} : Composantes de Lifshitz- Van der Waals de l'eau;

γ_i^+ : Composante(s) accepteurs d'électrons de la surface;

γ_w^+ : Composante(s) accepteurs d'électrons de l'eau;

γ_i^- : Composant e(s) donneurs d'électrons de la surface;

γ_w^- : Composant e(s) donneurs d'électrons de l'eau.

Selon l'approche de Vogler (1998), les valeurs de l'angle de contact avec l'eau (θ_w) des *Escherichia coli* codifiée EI1, 38, EM3, 64, 19, EM4 et EI4 présentent un caractère hydrophobe allant de (69,4° à 99,8°), cependant, les souches 13, 76, EI3, EI2 et 65 présentent un caractère hydrophile allant de (33,2° à 56,5°).

En utilisant l'approche thermodynamique de Van Oss et al. (1988a), (Van Oss, 1995), les résultats montrent que *E. coli* EI1, 38, EM3, 64 et 19 ont un caractère hydrophobe, en particulier, *E. coli* EI1 et 38 ayant respectivement -70,7 mJm⁻² et -68,5 mJm⁻². Par contre, *E. coli* EM4, 13, 76, EI3, EI2, 65 et EI4 présentent un caractère hydrophile notamment, *E. coli* I2 (21,3 mJm⁻²) et *E. coli* 65 (48,6 mJm⁻²).

A la lumière des résultats obtenus, nous avons trouvé que 42% des souches des *Escherichia coli* étudiées présentent un caractère hydrophobe par les approches qualitative et quantitative ($\theta_w > 68^\circ$, $\Delta G_{iwi} < 0$) avec une hydrophobicité très élevée et bien marquée pour les souches (EI1 et 38). Cependant, 58% de souches présentent un caractère hydrophile. La souche EI4 présente un caractère hydrophobe par l'approche qualitative ($\theta_w = 75,3^\circ$), par contre, par l'approche quantitative, cette souche est hydrophile (16,6 mJm⁻²).

Le caractère hydrophobe d'une cellule bactérienne est largement influencé par les résidus et les structures sur la surface de la cellule, qui peuvent être hydrophiles ou hydrophobes (van der Mei et al., 1991). Cela signifie que le caractère hydrophobe des bactéries varie selon les espèces et les souches en fonction du mode, du stade de la croissance et de la composition du milieu de croissance (Li and McLandsborough, 1999, Hassan and Frank, 2004). Nos résultats sont en accord avec ces données, en effet, les souches d'*Escherichia coli* étudiées ont montré une variabilité du caractère d'hydrophobicité importante.

Plusieurs auteurs ont montré que l'hydrophobicité mesurée par l'angle de contact est directement corrélée avec le rapport élevé des concentrations de N/C et inversement corrélée avec celui des concentrations de O/C (Mozes et al., 1988, Cowan et al., 1992, Cuperus et al., 1993, Latrache et al., 1994, Busscher et al., 1997, Dengis and Rouxhet, 1997, Dufrêne et al., 1997, Boonaert and Rouxhet, 2000, Latrache et al., 2002). Ces résultats indiquent que l'origine du caractère hydrophobe mesuré par l'angle de contact est les groupements contenant l'azote et l'origine du caractère hydrophile est les groupements contenant l'oxygène.

Plus récemment, Hamadi et al. (2008) ont étudié la relation entre la composition des groupes fonctionnels de surface d'*Escherichia coli* et leurs propriétés physicochimiques telles que l'hydrophobicité qualitative (θ_w) ; les résultats ont montré que l'hydrophilie de surface cellulaire était associée à des niveaux élevés de groupes fonctionnels (C- (O.N)) et (OH- (C-O-C)), alors que l'hydrophobicité de surface cellulaire était associée à des groupes fonctionnels (C- (C, H)).

Les études de Dengis and Rouxhet (1997) ont rapporté que l'hydrophobicité de levures est liée à la présence des protéines. Dufrêne et al. (1997) ont montré que le caractère hydrophile des bactéries est lié à la présence de polysaccharides et le caractère hydrophobe est liée à la présence des hydrocarbures. Latrache et al. (2002) ont montré également que le caractère hydrophile d'*E. coli* est lié à la présence des polysaccharides, alors que le caractère hydrophobe est lié à la présence des protéines.

➤ Caractères donneurs d'électrons et accepteurs d'électrons de la surface microbienne des *Escherichia coli*

Les propriétés acido-basiques des bactéries sont calculées à partir des mesures des angles de contact effectuées avec de l'eau, du diiodométhane et du formamide. Les composantes de Lifshitz-Van der Waals (γ^{LW}), donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons (γ^+) de la surface des différentes souches étudiées ont été calculées à partir de l'équation de Yong- Van Oss (1988) (Voir Matériels et Méthodes).

D'après le tableau 11, on constate que contrairement aux souches d'*Escherichia coli* (EI1, 38), qui présentent un caractère donneur d'électrons (γ^-) très faible (1,40 mJm⁻² ; 2,31 mJm⁻²), toutes les autres souches ont un caractère donneur d'électrons (γ^-) élevé ou moyennement élevé variant entre 13,84 et 66,91 mJ.m⁻².

Par ailleurs, Toutes les souches exprimant un caractère faiblement donneur d'électrons, ont montré aussi un caractère hydrophobe (Voir tableau 11). Les autres souches dont le caractère donneur d'électrons est élevé ou moyennement élevé ont un caractère hydrophile.

On note également d'après les résultats obtenus que toutes les souches présentent un caractère accepteur d'électrons (γ^+) faible à l'exception des souches (EM4, EI3, EI4) qui

présentent des valeurs moyennement élevées par rapport aux autres souches. Les valeurs du caractère accepteur d'électrons (γ^+) varient entre 0,1 et 7,0 mJ.m⁻².

Comme pour l'hydrophobicité de la surface des micro-organismes, plusieurs études sont consacrées à l'étude des éléments chimiques qui sont à l'origine du caractère donneur-accepteur d'électrons. Plusieurs travaux (Cowan et al., 1992, Cuperus et al., 1993, Magnusson et al., 1977, Amory et al., 1988, Mozes and Rouxhet, 1987, Mozes et al., 1989, Van der Mei et al., 1993, Latrache et al., 1994, Rouxhet et al., 1994) ont rapporté que la charge de la surface cellulaire peut être expliquée sur la base de la composition chimique de la surface déterminée par spectrophotométrie aux rayons X (XPS).

En effet, l'importance du caractère donneur d'électrons a été attribuée à la présence de groupements basiques exposés à la surface cellulaire, comme les groupements carboxyles (COO⁻), phosphates (PO₄) des phospholipides, lipoprotéines et lipo-polysaccharides, amines (NH₂) (Briand et al., 1999b) ou les groupements sulfates (SO₃) (Pelletier et al., 1997). Ainsi que l'importance du caractère accepteur d'électrons a été attribuée à la présence des groupements acides exposés à la surface cellulaire, comme R-NH ou R-OH. Les travaux de Hamadi et al. (2012) ont corrélée le caractère donneur d'électrons de la surface d'*E. coli* à une combinaison du groupe carboxyle et du groupe amine et aussi à une combinaison des protéines et des polysaccharides.

- 42% des souches des *Escherichia coli* étudiées présentent un caractère hydrophobe qualitativement et quantitativement (EI1, 38, EM3, 64 et 19), en particulier, *E. coli* EI1 et 38.
- 58% de souches d'*E. coli* présentent un caractère hydrophile (EM4, 13, 76, EI3, EI2, 65 et EI4).
- Toutes les souches ont un caractère donneur d'électrons (γ^-) élevé ou moyennement élevé à l'exception d'*E. coli* EI1 et 38.
- Toutes les souches exprimant un caractère faiblement donneur d'électrons, ont montré aussi un caractère hydrophobe. Les autres souches dont le caractère donneur d'électrons est élevé ou moyennement élevé ont un caractère hydrophile.
- Les souches d'*E. coli* présentent un caractère accepteur d'électrons (γ^+) faible à l'exception de (EM4, EI3, EI4) qui présentent des valeurs moyennement élevées.

II. Caractérisations des souches de salmonelles d'origine alimentaire

Les mesures de l'angle de contact des salmonelles, leurs énergies libres d'interaction (ΔG_{iwi}), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et les caractères donneur (γ^-) /accepteur d'électrons (γ^+) des surfaces cellulaires des *Escherichia coli* sont résumés dans le tableau 12.

Tableau 12: Caractérisation physicochimique des surfaces des cinq souches de *salmonelles* par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants

| Souches | Angle de contact (°) | | | Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) en (mJm^{-2}) | | | ΔG_{iwi} (mJm^{-2}) |
|--------------------|----------------------|------------|------------|--|------------|------------|---------------------------------|
| | Θ_w | Θ_f | Θ_d | γ^{LW} | γ^+ | γ^- | |
| <i>S. muenster</i> | 30,8 (1,4) | 52,7 (1,2) | 29,9 (2,1) | 44,3 | 1,5 | 72,0 | 44,7 |
| <i>S. newport</i> | 39,4 (2,2) | 46,6 (1,9) | 24,7 (3,2) | 46,3 | 0,5 | 51,7 | 28,1 |
| <i>S. kentucky</i> | 31,1 (1,7) | 51,4 (4,4) | 70,1 (2,6) | 22,8 | 0,6 | 66,9 | 44,4 |
| <i>S. infantis</i> | 9,7 (1,2) | 15,5 (2,0) | 29,8 (3,7) | 44,2 | 0,5 | 56,9 | 35,8 |
| <i>S. mbandaka</i> | 46,1 (2,5) | 40,6 (1,9) | 30,1 (2,1) | 36,0 | 0,1 | 40,5 | 21,3 |

* L'écart-type est donné entre parenthèse

Θ_w : Angle de contact avec l'eau Θ_f : Angle de contact avec formamide Θ_d : Angle de contact avec diiodométhane ;

➤ Hydrophobicité des surfaces cellulaires des salmonelles

L'hydrophobicité des surfaces des Salmonelles a été également déterminée à partir des mesures de l'angle de contact et les équations de Young-Van Oss. Les résultats sont présentés dans les tableaux 12.

En se référant aux deux approches de Vogler (1998) et (Van Oss et al., 1988b, Van Oss and Giese, 1995), les résultats obtenus (tableau 12) des mesures d'angle de contact avec l'eau et l'énergie libre d'interaction (ΔG_{iwi}) montrent que toutes les souches des salmonelles : *S. muenster* ; *S. newport* ; *S. kentucky* ; *S. infantis* et *S. mbandaka* ont un caractère hydrophile avec respectivement ($\theta_w = 30,8^\circ$; $\theta_w = 39,4^\circ$; $\theta_w = 31,1^\circ$; $\theta_w = 9,7^\circ$; $\theta_w = 46,1^\circ$ et $\Delta G_{iwi} = 44,7 mJm^{-2}$; $\Delta G_{iwi} = 28,1 mJm^{-2}$; $\Delta G_{iwi} = 44,4 mJm^{-2}$; $\Delta G_{iwi} = 35,8 mJm^{-2}$; $\Delta G_{iwi} = 21,3 mJm^{-2}$).

Ces résultats sont assez similaires à ceux de Sinde and Carballo (2000) qui rapportent que les souches de *Salmonella* isolées du foie de poulet, des saucisses fraîches et des hamburgers étaient hydrophiles avec des valeurs d'angles de contact d'eau allant de $25,4^\circ$ à $35,0^\circ$.

➤ Caractère donneur d'électrons et accepteur d'électrons de la surface microbienne des Salmonelles

D'après le tableau 12, on constate que les surfaces cellulaires de *S. muenster*, *S. newport*, *S. kentucky*, *S. infantis* et *S. mbandaka* sont principalement des donneurs d'électrons avec respectivement $72,0 mJm^{-2}$; $51,7 mJm^{-2}$; $66,9 mJm^{-2}$; $56,9 mJm^{-2}$ et $40,5 mJm^{-2}$. De plus, les résultats du caractère accepteur d'électrons (γ^+) montrent que *S. Newport*, *S. kentucky*, *S. infantis* et *S. mbandaka* sont faiblement accepteurs d'électrons avec respectivement $0,5 mJm^{-2}$; $0,6 mJm^{-2}$; $0,5 mJm^{-2}$ et $0,1 mJm^{-2}$. Par ailleurs, la souche *S.*

muenster a un caractère faiblement accepteur d'électrons avec une valeur relativement élevée par rapport aux autres souches de salmonelle (1,5 mJm⁻²).

- Toutes les souches des salmonelles, *S. muenster* ; *S. newport* ; *S. kentucky* ; *S. infantis* et *S. mbandaka*, ont un caractère hydrophile.
- Les surfaces cellulaires de toutes les salmonelles sont principalement des donneurs d'électrons.
- Toutes les souches des salmonelles sont faiblement accepteur d'électrons.

III. Effet de la force ionique sur les propriétés physicochimiques des surfaces d'*Escherichia coli* et des salmonelles

III.1. Comparaison des propriétés physico-chimiques de surface des *Escherichia coli* à deux forces ioniques

L'influence de la force ionique du milieu de suspension sur les douze souches d'*Escherichia coli* est examinée. Les résultats des valeurs des hydrophobicités, du caractère donneur d'électrons et du caractère accepteur d'électrons de la surface cellulaires en fonction de la force ionique (0,1M ; 0,001M) sont présentés dans l'annexe 1 et la figure 17.

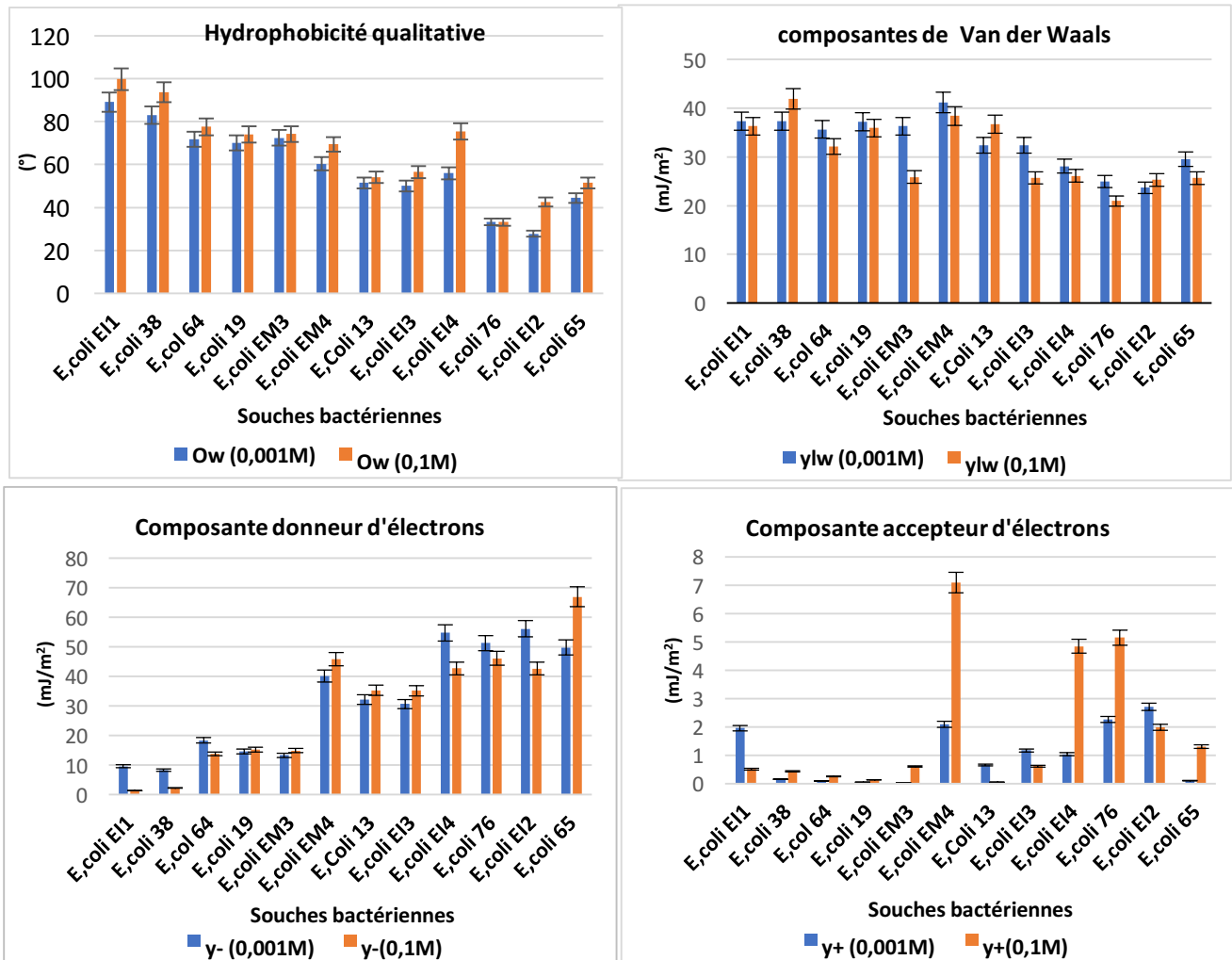


Figure 17 : Comparaison des hydrophobicités (Θ_w), composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) des *Escherichia coli* à deux forces ioniques (0,001M ; 0,1M)

Toutes les souches d'*E. coli* n'ont pas changé de caractère d'hydrophobicités quelle que soit la force ionique appliquée, mais la valeur moyenne de cette hydrophobicité (Θ_w) augmente, pour toutes les souches avec l'augmentation de la force ionique de 0,001M à 0,1M. Cette augmentation est nettement significative pour *E. coli* EI4.

L'augmentation de la force ionique du milieu n'a pas affecté significativement le caractère de Van der Waals (γ^{LW}) à l'exception de la souche EM3 dont la valeur a diminué en augmentant la force ionique à 0,1M. Le caractère donneur d'électrons (γ^-) des *E. coli* n'a pas été influencé par l'augmentation de la force ionique à l'exception d'E11, 38 et 65 dont la valeur a diminué en augmentant la force ionique à 0,1M.

Le caractère accepteur d'électrons (γ^+) est très influencé par la force ionique : nous observons que le caractère accepteur d'électrons des souches (EM4, EI4, 76, 65) augmente fortement avec une forte force ionique du milieu 0,1M. Cependant, l'augmentation de la force

ionique a inversement influencé le caractère accepteur d'électrons d'*E. coli* EI1. Ce caractère n'a pas changé pour le reste des souches.

Plusieurs travaux (Pelletier et al., 1997) ont rapporté que les microorganismes hydrophiles possèdent un caractère donneur d'électrons important. Aussi, Van Oss and Giese (1995) a rapporté qu'une surface hydrophobe a un caractère donneur d'électrons (γ^-) et accepteur d'électrons faibles (γ^+) et qu'une surface hydrophile a un caractère donneur d'électrons important. Aussi, (Busscher et al., 1999) ont rapporté qu'un microorganisme hydrophile traduit des interactions acido-basiques très fortes avec l'eau.

De façons similaire, nous avons montré que les souches dont le caractère est hydrophobe (EI1, 38, 64, 19, EM3) ont un caractère donneur d'électrons et celui accepteur d'électrons faibles par rapport à celles dont le caractère est hydrophile. Ces résultats restent valables aux deux forces ioniques appliquées (0,1M ; 0,001M).

D'après Oliviero (1993) et (van der Wal et al., 1997), l'augmentation de la force ionique est accompagnée par une diminution de la charge électrostatique. Cette diminution est attribuée à une adsorption importante des cations qui provoquent une neutralisation des groupes de la surface. Cependant, les interactions répulsives deviennent faibles. La diminution des interactions répulsives avec l'augmentation de la force ionique peut expliquer l'augmentation de l'hydrophobicité observée.

III.2. Comparaison des propriétés physico-chimiques des salmonelles à deux forces ioniques

L'influence de la force ionique du milieu de suspension sur les souches de Salmonelles est étudiée. Les résultats des valeurs des hydrophobicités, du caractère donneur d'électrons et du caractère accepteur d'électrons de la surface cellulaires en fonction de la force ionique (0,1M ; 0,001M) sont présentés dans l'annexe 2 et la figure 18.

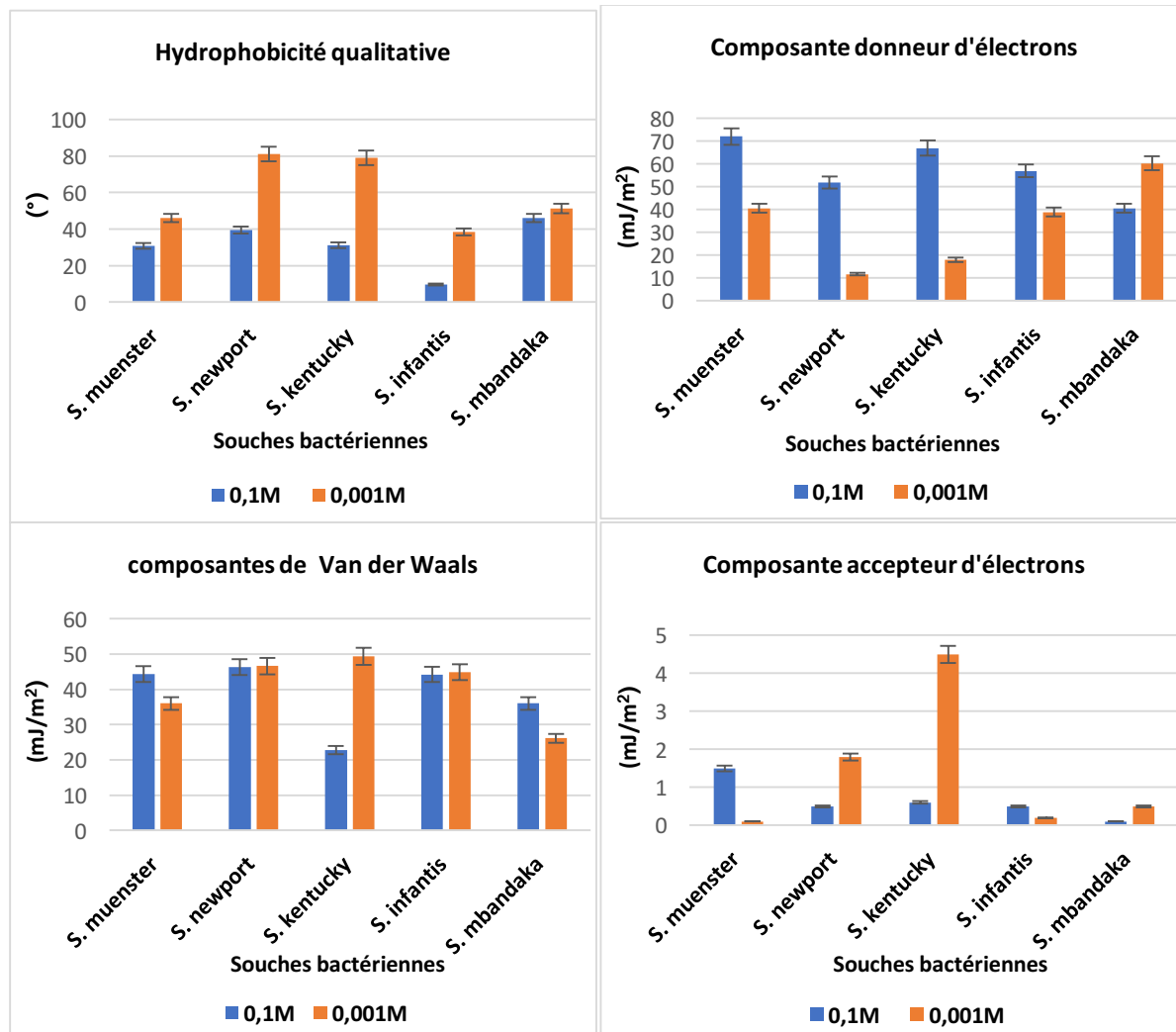


Figure 18: Caractérisation physicochimique des surfaces des cinq salmonelles par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants à deux forces ioniques (0,1M – 0,001M)

En augmentant la force ionique à 0,1M, les souches de *S. newport* et *S. kentucky* ont changé de caractère d'hydrophobicité en passant d'un caractère hydrophobe (81,2° ; 79,1°) à un caractère hydrophile (39,4 ° ; 31,1°). Pour toutes les autres souches, Cette augmentation de la force ionique n'a pas généralement modifié leurs caractères hydrophiles.

Hamadi and Latrache (2008), (Hamadi et al., 2004) et Teixeira et al. (2005) ont également observé une grande variation d'hydrophobicité de la surface bactérienne en modifiant les caractéristiques du milieu de suspension (pH, force ionique).

La diminution de la force ionique a diminué le caractère de Van der Waals (γ^{LW}) des souches de *S. muenster* et *S. mbandaka*. Cette diminution a augmenté remarquablement ce caractère pour *S. kentucky*. Les autres souches n'ont pas été affectées par la modification de la force ionique.

En outre, à forte force ionique 0,1M, les surfaces cellulaires de toutes les souches de salmonelle étaient principalement donneurs d'électrons (valeurs élevées de γ^-). Ce caractère a

diminué de façon très significative en diminuant la force ionique à 0,001M, en particulier, chez *S. newport*, *S. kentucky* (11,6 mJm⁻²; 18,0 mJm⁻²). Cependant, ce caractère a augmenté à faible force ionique pour la souche *S. mbandaka*.

De plus, la composante accepteur d'électrons (γ^+) montre que toutes les salmonelles sont généralement faiblement accepteurs d'électrons à une forte force ionique.

Ce caractère a varié différemment en diminuant la force ionique :

- Pour *S. newport* et *S. kentucky*, ce caractère a augmenté de façon très significative en particulier pour *S. kentucky* (4,5 mJm⁻²).
- Pour *S. muenster*, ce caractère a diminué de manière très significative (0,1 mJm⁻²).

- Toutes les souches d'*E. coli* n'ont pas changé de caractère d'hydrophobicité quelle que soit la force ionique appliquée.
- Le caractère donneur d'électrons (γ^-) d'*E. coli* n'a pas été influencé par l'augmentation de la force ionique à l'exception d'EI1, 38 et 65 dont la valeur a diminué en augmentant la force ionique à 0,1M.
- Le caractère accepteur d'électrons (γ^+) des *E. coli* (EM4, EI4, 76, 65) augmente fortement avec une forte force ionique 0,1M. Par contre, celui d'*E. coli* EI1 a diminué. Cependant, ce caractère n'a pas changé pour le reste des souches.
- Le caractère donneur d'électrons important des salmonelles à forte force ionique a diminué de façon très significative en diminuant la force ionique, en particulier, *S. newport*, *S. kentucky*. Cependant, ce caractère a augmenté à faible force ionique pour la souche *S. mbandaka*.
- Toutes les salmonelles sont généralement faiblement accepteur d'électrons (γ^+) à une forte force ionique.
- En diminuant la force ionique, ce caractère a augmenté significativement pour *S. newport* et *S. kentucky*. Par contre, ce caractère a diminué pour *S. muenster*.

IV. Détermination des propriétés des surfaces du verre et des aciers inoxydables 304L, 304, 316L

Les recherches sur les propriétés du verre ont fait l'objet depuis plusieurs décennies de nombreuses publications en exploitant toute une gamme de techniques analytiques (microscopie, résonance magnétique nucléaire, infrarouge, XPS et l'angle de contact ...). De ce fait, nous avons choisi ce support comme modèle inerte dans notre étude.

Par ailleurs, les supports des aciers inoxydables utilisés dans cette étude sont très couramment rencontrés dans les installations et les équipements des industries agroalimentaires. Parmi les différentes classes et catégories des aciers utilisés en IAA, nous avons choisi les classes AISI 304 ; AISI 304L et AISI 316L. Pour ces derniers, en plus des caractères physicochimiques, nous avons également déterminé la microtopographie et la rugosité des surfaces par l'AFM.

IV.1. Caractérisation physicochimiques de la surface du verre et des aciers inoxydables (304L, 304, 316L)

Les résultats de mesure de l'angle de contact, des composantes de Van der Waals (γ^{LW}), des composantes donneurs d'électrons (γ^-), d'accepteurs d'électrons (γ^+) et de l'énergie libre d'interaction du verre (ΔG_{iwi}), l'acier inoxydable 304L, l'acier inoxydable 304 et l'acier inoxydable 316L sont résumés dans le tableau 13 :

Tableau 13. Propriétés physicochimiques des surfaces du verre, de l'acier inoxydable 304L, de l'acier inoxydable 304 et de l'acier inoxydable 316L.

| Surface | Angle de contact (°) | | | Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) en (mJm^{-2}) | | | ΔG_{iwi} (mJm^{-2}) |
|-----------------------|----------------------|------------|------------|--|------------|------------|---------------------------------|
| | Θ_w | Θ_f | Θ_d | γ_{lw} | γ^+ | γ^- | |
| Verre | 36,1(2,2) | 46,2 (5,1) | 59,5 (2,9) | 28,7 | 0,7 | 54,9 | 38,6 |
| Acier inoxydable 304L | 27,7(4,9) | 34,0 (2,7) | 47,5 (2,4) | 35,5 | 0,6 | 53,8 | 35,6 |
| Acier inoxydable 304 | 80,2(2,9) | 60,2 (3,0) | 23,2 (0,5) | 46,6 | 0,2 | 7,0 | -53,1 |
| Acier inoxydable 316L | 74,9(1,0) | 44,4 (3,5) | 41,6 (1,7) | 38,7 | 1,5 | 4,6 | -48,6 |

L'écart-type est donné entre parenthèse

Θ_w : Angle de contact avec l'eau ; Θ_f : Angle de contact avec formamide ; Θ_d : Angle de contact avec diiodométhane ;

➤ Caractéristiques du verre

Du point de vue qualitative et quantitative, le verre présente un caractère relativement hydrophile ($\Theta_w = 36,1^\circ$; $\Delta G_{iwi} = 38,6 \text{ mJ.m}^{-2}$), un caractère donneur d'électrons (γ^-) important ($\gamma^- = 54,9 \text{ mJ.m}^{-2}$) et un caractère accepteur d'électrons (γ^+) faible ($\gamma^+ = 0,7 \text{ mJ.m}^{-2}$). Ces résultats sont en accord avec ceux de Hamadi et al. (2009) qui ont également trouvé une valeur d'angle de contact de l'ordre de $35,7^\circ$.

➤ Caractéristiques des aciers inoxydables

Par ailleurs, l'acier inoxydable 304L présente également un caractère qualitativement et quantitativement hydrophile ($\Theta_w = 27,7^\circ$; $\Delta G_{iwi} = 35,6 \text{ mJ.m}^{-2}$). Cependant, les aciers inoxydables 304 et 316L ont des caractères qualitativement et quantitativement hydrophobes ($\Theta_w = 80,2^\circ$; $\Delta G_{iwi} = -53,1 \text{ mJ.m}^{-2}$ et $\Theta_w = 74,9^\circ$; $\Delta G_{iwi} = -48,6 \text{ mJ.m}^{-2}$). Les auteurs (Sinde and Carballo, 2000, Azelmad et al., 2017, Hamadi et al., 2014, Silva et al., 2008,

Oliveira et al., 2007, Teixeira et al., 2008) ont également classé l'acier inoxydable 304 en tant que matériau hydrophobe. Par contre, ces résultats sont contradictoires avec ceux de Teixeira et al. (2005) qui ont indiqué que l'acier inoxydable 304 a un caractère hydrophile.

Les résultats montrent aussi que l'acier inoxydable 304L est principalement donneur d'électrons ($\gamma^- = 53,8 \text{ mJ.m}^{-2}$), cependant, l'acier inoxydable 304 et 316L présentent des caractères donneurs d'électrons faibles ($\gamma^- = 7,0 \text{ mJ.m}^{-2}$; $\gamma^- = 4,6 \text{ mJ.m}^{-2}$) (tableau 13).

Les trois supports d'acier inoxydable (304L, 304, 316L) ont un caractère accepteur d'électrons faibles ($\gamma^+ = 0,6 \text{ mJ.m}^{-2}$, $\gamma^+ = 0,2 \text{ mJ.m}^{-2}$; $\gamma^+ = 1,5 \text{ mJ.m}^{-2}$) (tableau 13).

Ces résultats sont en concordance avec ceux de (Rubio, 2002) qui ont indiqué que l'acier inoxydable 304L était principalement un support fortement donneur d'électrons et faiblement accepteur d'électrons. De plus, les résultats obtenus pour l'acier inoxydable 304 sont en accord avec ceux rapportés par (Oliveira et al., 2007, Azelmad et al., 2018) qui ont classé le SS 304 dans la catégorie des matériaux faiblement donneurs et accepteurs d'électrons.

IV.2. Etude de la microtopographie de la surface des aciers inoxydables par microscope à force atomique (AFM)

La microtopographie de surface et la rugosité moyenne arithmétique (Ra) des aciers inoxydables (304L, 304, 316L) ont été évaluées par microscope à force atomique (AFM). Les résultats sont présentés dans les figures 19 et 20.

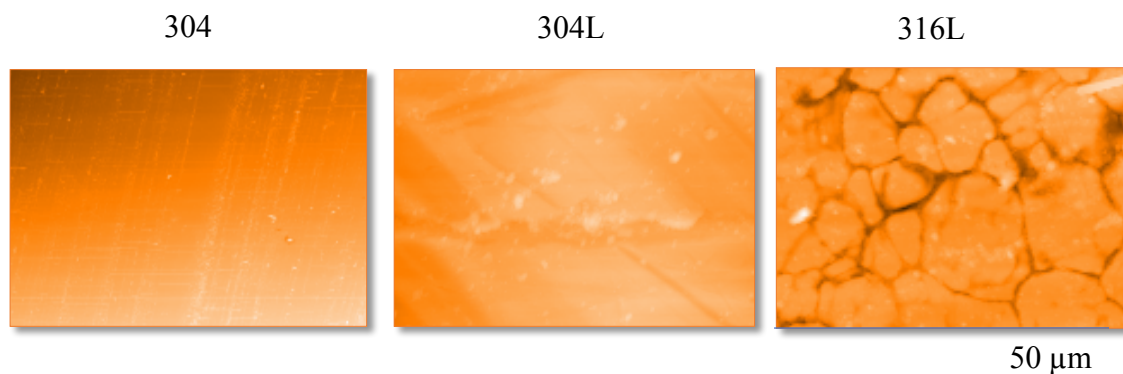


Figure 19 : Observations des aciers inoxydables (304, 304L et 316L) par microscope à force atomique (AFM). Toutes les images sont à 50x 50 µm.

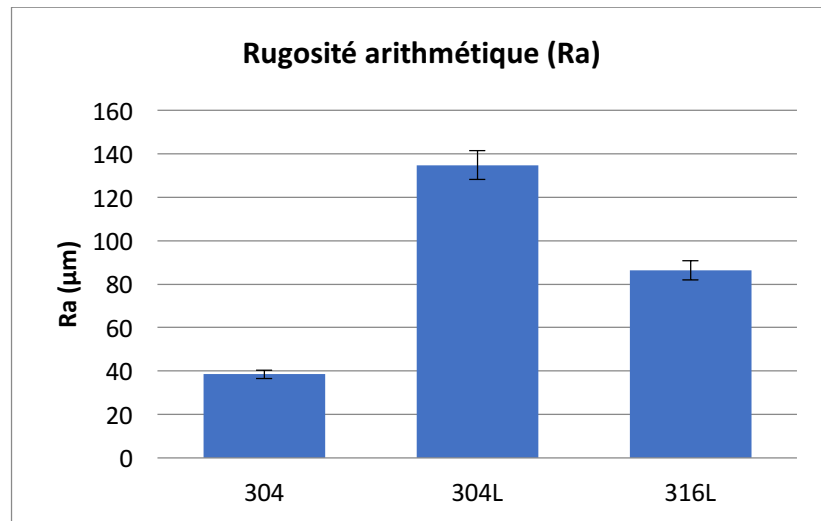


Figure 20: Rugosité arithmétique moyenne des aciers inoxydables (304, 304L, 316L) mesurée par AFM

Les figures 19 et 20 illustrent la topographie de surface et la rugosité de surface moyenne (Ra) obtenue à partir de l'analyse de la rugosité réalisée par microscopie à force atomique. Ra indique la distance moyenne du profil de rugosité par rapport au plan médian du profil.

Les valeurs de la rugosité arithmétique moyenne des aciers inoxydables (304, 304L et 316L) mesurées par AFM sont respectivement L'acier inoxydable 304L a la valeur Ra la plus élevée, suivi de l'acier inoxydable 316L et 304 (Figure 20). Les valeurs de la rugosité de l'acier inoxydable 304 sont comparables à celles trouvées par (Azelmad et al., 2017) et inférieur à celles de Kouider et al. (2010) et Teixeira et al. (2008) qui ont utilisé le rugosimètre dans les mesures de la rugosité. En plus de l'outil de mesure utilisé, la différence observée de la rugosité peut être due à la nature des matériaux, à leur origine et à la finition qu'ils ont subie.

La surface du substrat peut avoir plusieurs caractéristiques qui jouent un rôle très important dans le processus de l'adhésion (Characklis, 1990). Les propriétés physico-chimiques de la surface de substrat (l'hydrophobicité et le caractère donneur-accepteur d'électrons) peuvent aussi exercer une grande influence sur la vitesse et le taux de l'adhésion. Selon les caractéristiques énergétiques de la surface solide étudiée, l'adhésion microbienne peut être augmentée ou diminuée, d'une part et, d'autre part, la répartition des cellules adhérentes aux surfaces solides peut être différente (Fregard, 1991). La plupart des études réalisées dans des domaines d'applications divers, ont montré que les micro-organismes adhèrent plus difficilement aux matériaux hydrophiles (verre, métaux), qu'aux matériaux hydrophobes (polyéthylène, polystyrène, téflon). Par ailleurs, il est généralement connu qu'une augmentation de la valeur de Ra entraînera une augmentation correspondante de l'adhésion microbienne sur la surface (Whitehead et al., 2004). Cela a été confirmé par les

travaux de plusieurs auteurs (Bohinc et al., 2016, Bohinc et al., 2014, Yamauchi et al., 1990, Verran et al., 1991, Tebbs et al., 1994).

- Le verre présente un caractère relativement hydrophile, un caractère donneur d'électrons (γ^-) important et un caractère accepteur d'électrons (γ^+) faible.
- L'acier inoxydable 304L présente un caractère hydrophile, cependant, les aciers inoxydables 304 et 316L ont des caractères hydrophobes.
- L'acier inoxydable 304L est principalement donneur d'électrons, cependant, les aciers inoxydables 304 et 316L présentent des caractères donneurs d'électrons faibles.
- Les trois supports d'acier inoxydable (304L, 304, 316L) ont un caractère accepteur d'électrons faibles.
- L'acier inoxydable 304L a la valeur de la rugosité arithmétique moyenne R_a la plus élevée, suivi de l'acier inoxydable 316L et de l'acier 304.
- La différence observée de la rugosité peut être due à la nature des matériaux, leur composition, leur origine ou la finition qu'ils ont subie.

CONCLUSION

Les résultats de ce chapitre, nous ont permis de caractériser de point de vue physicochimique les différentes souches des *Escherichia coli* et des *salmonelles* d'origines alimentaires afin de pouvoir étudier la relation entre ces caractères et leurs comportements adhésifs. Aussi, la caractérisation des supports de point de vue physicochimique et rugosité, nous a permis d'identifier les propriétés des surfaces des substrats de notre étude à savoir le verre et les aciers inoxydables (304 ; 304L ; 316L). Ces résultats nous serviront comme base d'étude du phénomène d'adhésion microbienne dans les prochains chapitres.

CHAPITRE II : ETUDE DE L'ADHESION PREDICTIVE DES *ESCHERICHIA COLI* ET DES *SALMONELLES* SUR LE VERRE ET TROIS TYPES D'ACIER INOXYDABLE 304, 304L ET 316L

INTRODUCTION

Les aciers inoxydables sont largement utilisés dans les équipements de transformation des aliments et en contact d'aliments. Ces supports peuvent être colonisés par plusieurs microorganismes présents en milieu industriel. Les bactéries adhérees aux surfaces des équipements peuvent potentiellement constituer des sources de contamination microbienne pouvant nuire à la qualité des aliments et représenter un risque important pour la santé.

Les mécanismes fondamentaux qui régissent l'adhésion microbienne sont encore mal compris et n'ont donc pas été complètement définis. Il est admis que les propriétés physico-chimiques de la surface microbienne et celles des supports sont des facteurs déterminants de l'adhésion initiale (Van Oss et al., 1986, Bellon-Fontaine et al., 1990, Gallardo-Moreno et al., 2002, Bos et al., 1999, Bayouhd et al., 2006). Plusieurs modèles théoriques ont été proposés pour prédire le phénomène de l'adhésion des particules colloïdales aux surfaces dont l'approche de DLVO étendue développée par Van Oss. Cette approche considère trois types d'interactions physico-chimiques responsables de l'adhésion initiale : les interactions de Van der Waals, les interactions acido-basiques et les interactions électrostatiques. En utilisant cette approche, l'énergie totale de l'adhésion des bactéries sur les différents supports étudiés ainsi que ses composantes acide-base (AB) et Lifshitz –Van der Waals (LW) sont calculées par les équations issues du modèle de Van Oss (Van Oss, 1993).

La prévision de cette adhésion permet de nous informer sur le potentiel de contamination d'une surface inerte. Plusieurs travaux ont évalué le potentiel d'adhésion sur diverses surfaces en utilisant l'approche thermodynamique (Azelmad et al., 2018, Soumya et al., 2013, Hamadi et al., 2009, Pashley, 1981, Pringle and Fletcher, 1983). Certains travaux (Teixeira et al., 2005) se sont basés sur la prévision théorique pour proposer des solutions aux problèmes de bio-contamination. Dans cette partie, nous avons appliqué cette approche pour étudier le potentiel adhésif de 12 souches d'*Escherichia coli* et de 5 souches de *salmonelles*.

I. Adhésion prédictive d'*Escherichia coli* sur le verre et l'acier inoxydable 304, 304L et 316L selon l'approche DLVO étendue.

L'énergie libre totale d'interaction définie par la théorie XDLVO est la somme des interactions de Lifshitz / Van der Waals, électrostatique et acide-base. Les interactions électrostatiques peuvent être très importantes pour la suspension de liquides à faible force ionique. Étant donné que le liquide (Absolom et al., 1983) de suspension (solution de KNO_3) utilisé dans ce travail a une force ionique élevée (0,1 M), nous avons négligé l'énergie libre des interactions électriques par rapport à la somme de ΔG^{LW} et ΔG^{AB} , comme indiqué par

(Absolom et al., 1983, Busscher et al., 1984). Les méthodes de calcul sont détaillées dans la partie matériel et méthode.

Les résultats des énergies libres d'interactions de Lifshitz / Van der Waals (ΔG^{LW}) et acide-base (ΔG^{AB}) sont donnés dans l'annexe 3.

Les résultats du calcul des énergies libres d'adhésion ΔG^{Total} sont présentés dans le tableau 14.

Tableau 14: Energies libres d'adhésion [ΔG^{Total} (mJm^{-2})] des souches d'*Escherichia coli* sur le verre et les aciers inoxydables 304,304L et 316L

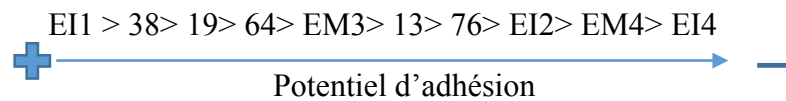
| Bactérie | ΔG^{Total} (mJm^{-2}) | | | |
|-------------------|-----------------------------------|----------|-----------|-----------|
| | Support | | | |
| | Verre | Inox 304 | Inox 304L | Inox 316L |
| <i>E.coli</i> 13 | 28,44 | -21,09 | 26,20 | -25,55 |
| <i>E.coli</i> 19 | 10,70 | -38,76 | 8,28 | -39,84 |
| <i>E.coli</i> 64 | 8,93 | -38,40 | 6,90 | -39,44 |
| <i>E.coli</i> 76 | 26,92 | -14,13 | 25,94 | -19,19 |
| <i>E.coli</i> 65 | 44,14 | 8,32 | 43,51 | -0,05 |
| <i>E.coli</i> 38 | -11,40 | -61,38 | -14,66 | -57,73 |
| <i>E.coli</i> EI1 | -13,84 | -62,29 | -16,60 | -58,58 |
| <i>E.coli</i> EI2 | 29,12 | -5,41 | 28,35 | -10,90 |
| <i>E.coli</i> EI3 | 27,85 | 3,05 | 27,79 | -2,57 |
| <i>E.coli</i> EI4 | 25,29 | -1,93 | 24,55 | -6,56 |
| <i>E.coli</i> EM3 | 9,65 | -33,27 | 8,37 | -34,98 |
| <i>E.coli</i> EM4 | 23,55 | -2,24 | 21,61 | -5,48 |

D'après (Van Oss, 1993), en se référant aux particules colloïdales inertes, seules les valeurs négatives de ΔG_{Tot} prédisent une adhésion favorable.

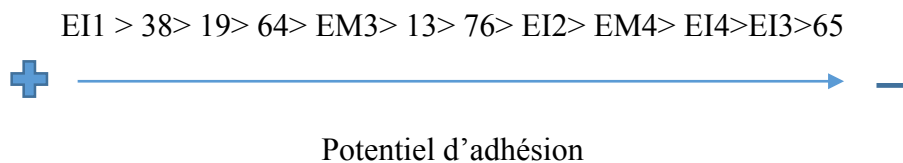
Dans le cas présent, les prédictions XDLVO dans le tableau 14, montrent que l'adhésion microbienne des souches *E. coli* EI1 et *E. coli* 38 sur le verre est favorable (-11,4 mJm^{-2} ; -13,84 mJm^{-2}). Toutes les autres souches d'*E. coli* montrent une adhésion défavorable sur le verre.

Les supports de l'acier inoxydable 304L expriment un potentiel d'adhésion défavorable pour toutes les souches d'*E. coli* à l'exception des souches 38 et EI1 avec des valeurs de l'énergie libre d'adhésion de (-14,66 mJm^{-2} et -16,60 mJm^{-2}) respectivement.

L'acier 304 (tableau 14) présente une adhésion favorable pour toutes les souches d'*Escherichia coli* à l'exception des *E. coli* 65 et EI3. Le taux de l'adhésion varie d'une souche à l'autre :



L'acier 316L favorise l'adhésion de toutes les souches d'*Escherichia coli* étudiées. L'adhésion est très variable et dépend de la souche étudiée :



- Les souches *E. coli* *EI1* et *E. coli* *38* sont les plus susceptibles d'adhérer, théoriquement, sur tous les supports.
- Les aciers inoxydables 304 et 316L semblent être plus favorables à l'adhésion microbienne d'*E. coli* que le verre et l'acier inoxydable 304.

II. Adhésion prédictive des salmonelles sur les supports selon l'approche DLVO étendue.

Les résultats du calcul de l'énergie libre d'adhésion ΔG^{Tot} des bactéries des salmonelles sur les supports du verre et des aciers inoxydables (304, 304L, 316L) sont présentés dans le tableau 15. Les calculs sont dans l'annexe 4.

Tableau 15 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm^{-2}) des salmonelles sur le verre et les aciers inoxydables (304, 304L, 316L)

| Bactérie | ΔG^{Total} (mJm^{-2}) | | | |
|--------------------|---|----------|-----------|-----------|
| | Support | | | |
| | Verre | Inox 304 | Inox 304L | Inox 316L |
| <i>S. muenster</i> | 44,27 | 4,66 | 41,73 | -2,21 |
| <i>S. newport</i> | 35,59 | -10,39 | 32,64 | -15,45 |
| <i>S. kentucky</i> | 46,40 | 7,80 | 46,02 | -1,28 |
| <i>S. infantis</i> | 38,78 | -6,47 | 36,06 | -12,30 |
| <i>S. mbandaka</i> | 31,58 | -16,40 | 29,44 | -21,47 |

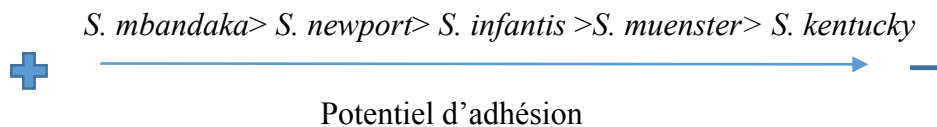
Forte adhésion

Faible adhésion

L'adhésion prédictive de toutes les souches de *salmonelles* (*S. mbandaka* ; *S. infantis* ; *S. kentucky* ; *S. newport* ; *S. muenster*) n'est pas favorable sur le verre (tableau 15).

Les résultats de l'étude du modèle prédictive de l'adhésion microbienne des 5 souches des salmonelles sur les surfaces des aciers inoxydables (304, 304L et 316L) présentés dans le tableau 15 montrent que :

- L'adhésion prédictive de toutes les souches de salmonelles (*S. mbandaka* ; *S. infantis* ; *S. kentucky* ; *S. newport* ; *S. muenster*) sur l'acier inoxydable 304L n'est pas favorable.
- L'acier 304 ne présente pas de capacité d'adhésion des souches *S. muenster* ; *S. kentucky*. Cependant, ce potentiel d'adhésion est important pour les souches *S. mbandaka*, *S. newport* et *S. infantis*.
- L'adhésion microbienne de toutes les souches des Salmonelles est thermodynamiquement possible sur l'acier 316L. l'adhésion des salmonelles est importante pour les souches *S. mbandaka*, *S. newport* et *S. infantis* comparativement à *S. kentucky* et *S. muenster*.



- Le verre et l'acier inoxydable 304L ne favorisent pas, thermodynamiquement, l'adhésion des 5 souches de salmonelle étudiées.
- L'acier inoxydable 316L favorise l'adhésion de toutes les souches de salmonelles. Les souches *S. mbandaka*, *S. newport* et *S. infantis* sont les plus susceptibles d'adhérer, théoriquement, sur les aciers inoxydables 304 et 316L.

Les résultats montrent que l'adhésion prédictive, de point de vue thermodynamique, sur les différents supports dépend des cellules bactériennes et des supports étudiés. Ces résultats sont similaires à ceux d'Elabed (2012) qui a rapporté que la variabilité de l'énergie totale de l'adhésion entre les différents supports de bois dépend essentiellement à la fois des micro-organismes et de la variété du bois.

Les résultats relatifs à l'adhésion prédictive d'*E. coli* et des salmonelles sur les supports des aciers 304 et 316L montrent qu'elle est généralement favorable. Ceci pourrait être lié au caractère hydrophobe de ces deux supports (voir chapitre I). Ces résultats sont en accord avec plusieurs travaux antérieurs qui ont démontré, sur des matériaux hydrophobes, une adhésion accrue des cellules végétatives bactériennes (Rosenberg & Kjelleberg, 1986) ou des spores de *Bacillus* (Faille et al., 2002, Wiencek et al., 1990). Aussi, nos résultats sont comparables à ceux de Flint et al. (2000) qui ont observé que l'adhésion microbienne est plus importante sur l'acier inoxydable 316L, légèrement plus hydrophobe dans leur étude que l'acier inoxydable 304L.

Par ailleurs, les résultats relatifs au calcul des énergies libres d'adhésion ΔG^{tot} (Annexe 3 et 4) montrent qu'une valeur positive de la composante acide-base (ΔG^{AB}) implique une adhésion défavorable ou faible sur le verre et les aciers inoxydables étudiés. Ceci est en accord avec les résultats d'Elabed qui a rapporté que la variabilité de l'énergie totale de l'adhésion entre les différentes essences de bois est essentiellement due à la composante acide-base (El Abed, 2012, El abed S., 2011).

CONCLUSION

L'analyse prévisionnelle de l'adhésion constitue un outil important dans la prévention des risques de contamination microbienne liés à l'adhésion et la formation de biofilm.

Les résultats de l'adhésion prédictive ont montré que les supports à caractère hydrophile, notamment le verre et l'acier inoxydable 304L, ne favoriseraient pas l'adhésion de toutes les souches de salmonelle et plus que 80% des souches des *E. coli* étudiées. Par contre, les aciers inoxydables 304 et 316L, dont le caractère est hydrophobe, semblent être plus favorables à l'adhésion microbienne des souches étudiées.

Par ailleurs, les souches *E. coli* E11 et *E. coli* 38 sont les plus susceptibles d'adhérer, théoriquement, sur tous les supports. Aussi, les souches *S. mbandaka*, *S. newport* et *S. infantis* sont les plus susceptibles d'adhérer sur l'acier inoxydable 304 et 316L.

La validation des résultats de l'adhésion prédictifs de ce travail, par l'analyse de l'adhésion expérimentale, nous permettra de vérifier la fiabilité d'appliquer ce modèle thermodynamique comme approche préventive dans l'analyse de risque d'adhésion microbienne. Cette étude fera l'objectif du chapitre suivant.

CHAPITRE III : ETUDE DE L'ADHESION EXPERIMENTALE DES MICRO-ORGANISMES EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT ET DE LA FORCE IONIQUE

INTRODUCTION

L'adhésion des microorganismes aux surfaces constitue la première étape dans la formation de biofilm. Comme pour toute particule inerte et colloïdale, l'adhésion est largement gouvernée par des interactions physico-chimiques. Ces interactions, dont la résultante peut être attractive ou répulsive, comprennent essentiellement les interactions électrostatiques, Lifshitz-Van der Waals et acides -bases de Lewis. Ces interactions dépendent des propriétés physico-chimiques de la surface des microorganismes, de la surface du substrat et des caractéristiques du milieu de suspension. Ces propriétés physico-chimiques comprennent l'hydrophobicité, la charge électrostatique et le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons. Tous les facteurs susceptibles de modifier les propriétés physico-chimiques de surface de l'un des éléments mis en jeu dans le phénomène d'adhésion peuvent ainsi favoriser ou au contraire limiter la biocontamination des surfaces.

Plusieurs auteurs ont étudié le phénomène d'adhésion dans le but de le comprendre, de l'expliquer et par conséquent de le moduler. La compréhension de ce phénomène nécessite l'étude de tous les éléments qui interviennent dans ce phénomène. Des auteurs (Van Loosdrecht et al., 1987, Dickson and Koochmarai, 1989, Faille et al., 2002, El et al., 2002, Hamadi et al., 2005, Hamadi et al., 2012) ont étudié les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire pour expliquer ce phénomène et d'autres se sont intéressés aux propriétés physico-chimiques de la surface du substrat (Boulangé-Petermann et al., 1993, Boulangé-Petermann et al., 1997, Scheuerman et al., 1998, Ong et al., 1999, El Abed et al., 2010). L'étude des caractéristiques du milieu environnant a aussi pris une grande attention (Stanley, 1983, Jana et al., 1999, Gallardo-Moreno et al., 2002, Hamadi et al., 2004).

Toutes les surfaces susceptibles d'être rencontrées dans les industries agroalimentaires que ce soit les aciers inoxydables, le verre ou autres peuvent être contaminées à des degrés différents par des bactéries pathogènes, sous certaines conditions, cette contamination initie la croissance cellulaire et conduit à la formation d'un biofilm (Jenkinson and Lappin-Scott, 2001). Plusieurs travaux ont étudié l'adhésion bactérienne sur différents supports utilisés en milieu agroalimentaire (Teixeira et al., 2005, Kouider et al., 2010, Hamadi et al., 2009, Hamadi et al., 2014, Mousavi et al., 2014, Bohinc et al., 2014, Bellon-Fontaine and Vernhet, 1999, Boulangé-Petermann et al., 1997, Faille et al., 2000)

A ce titre, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de la capacité d'adhésion des souches (*E. coli*, salmonelles) expérimentalement sur le verre en étudiant également l'influence des caractéristiques du milieu. Nous avons d'abord étudié le phénomène d'adhésion bactérienne sur le verre en fonction de la force ionique et le temps de contact. Par

ailleurs, nous avons étudié la corrélation entre l'adhésion expérimentale et les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire.

I. Adhésion microbienne des *Escherichia coli* sur le verre

I.1. Etude d'adhésion des *Escherichia coli* à deux forces ioniques et à deux temps de contact

En plus des composantes surface cellulaire et surface du matériau, les conditions physicochimiques du milieu ainsi que le temps de contact influencent le comportement adhésif des souches microbiennes.

L'adhésion microbienne des *E. coli* au verre à deux forces ioniques ($10^{-1}M$ et $10^{-3}M$) et à deux temps de contact (3heurs et 18heurs) a été évaluée à l'aide d'un microscope optique couplé à un écran d'ordinateur (figure 21). La quantification de l'adhésion microbienne a été évaluée par le traitement des images avec le logiciel Matlab[®] en estimant le pourcentage de la surface occupée par les bactéries. Les résultats sont présentés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérees des souches d'*Escherichia coli* sur le verre à deux forces ioniques ($10^{-1}M$ et $10^{-3}M$) et à deux temps de contact (3h et 18h)

| Souches | 3h- 10^{-1} | 3h- 10^{-3} | 18h- 10^{-1} | 18h- 10^{-3} |
|--------------------|---------------|---------------|----------------|----------------|
| <i>E. coli E11</i> | 0,08 | 0,07 | 26 | 5 |
| <i>E. coli 38</i> | 0,1 | 0,2 | 64 | 25 |
| <i>E. coli 64</i> | 13,5 | 0,3 | 26 | 22 |
| <i>E. coli 19</i> | 20 | 4 | 30 | 7 |
| <i>E. coli EM3</i> | 33 | 6 | 66 | 17 |
| <i>E. coli EM4</i> | 62 | 14 | 75 | 38 |
| <i>E. coli 13</i> | 25 | 10 | 68 | 15 |
| <i>E. coli E13</i> | 11 | 8 | 28 | 20 |
| <i>E. coli E14</i> | 8 | 5 | 35 | 11 |
| <i>E. coli 76</i> | 6 | 0,5 | 9 | 12 |
| <i>E. coli E12</i> | 2 | 0,1 | 15 | 7 |
| <i>E. coli 65</i> | 0,3 | 0,09 | 18 | 11 |

Les observations microscopiques de l'adhésion des *Escherichia coli* sur le verre à un grossissement de (Gx400) sont illustrées ci-dessous (Figure 21).

| Temps de contact | 3h | | 18h | |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Force ionique KNO ₃ Souches | 10 ⁻¹ M KNO ₃ | 10 ⁻³ M KNO ₃ | 10 ⁻¹ M KNO ₃ | 10 ⁻³ M KNO ₃ |
| E11 | | | | |
| 38 | | | | |
| 64 | | | | |
| 19 | | | | |
| EM3 | | | | |
| EM4 | | | | |
| 13 | | | | |

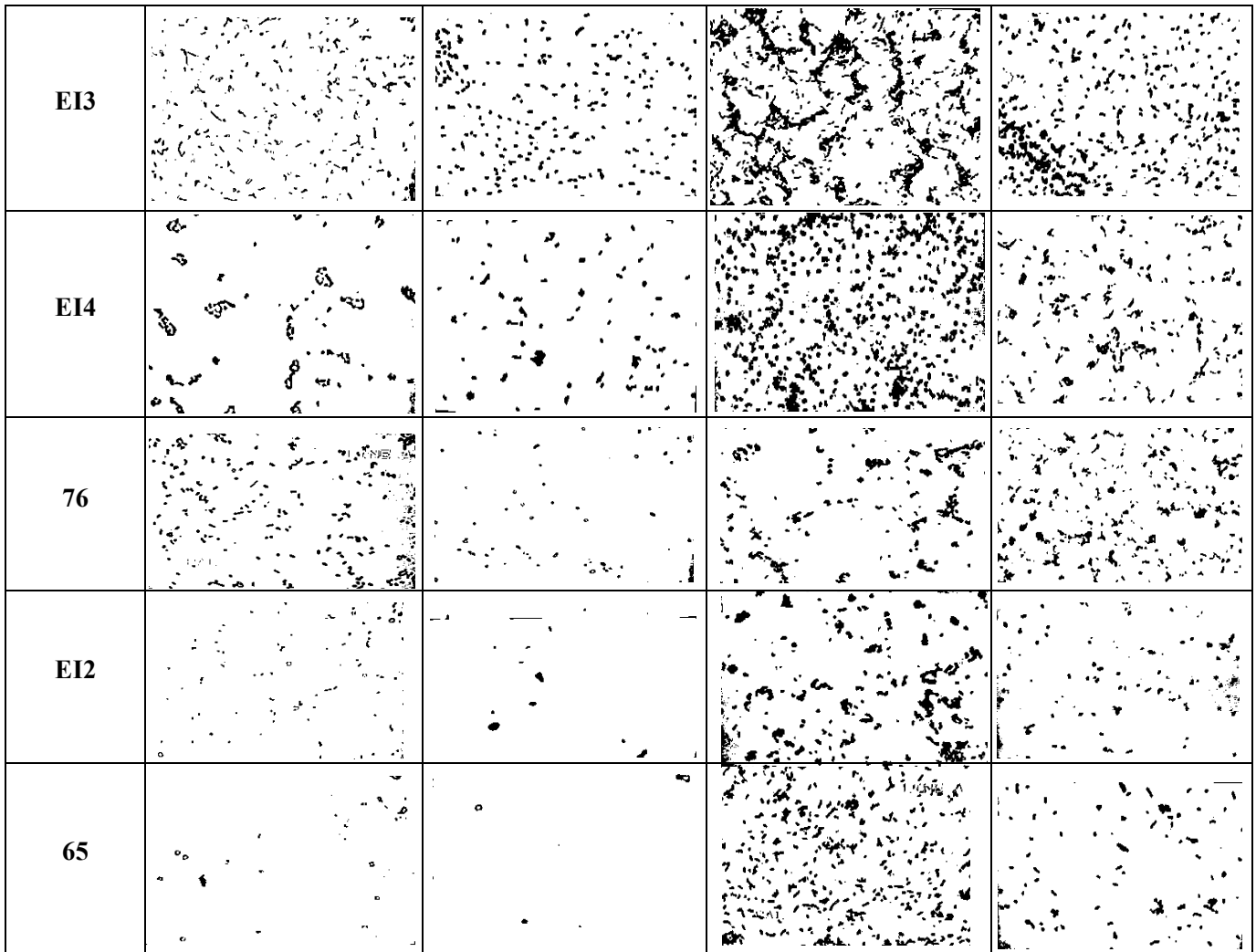


Figure 21 : Observation microscopique des cellules des *Escherichia coli* adhérentes sur le verre (Gx400) à deux forces ioniques ($10^{-1}M, 10^{-3}M$) et à deux temps de contact (3h, 18h).

Sur la base des traitements des observations et la quantification des pourcentages d'adhésion, une analyse des résultats d'adhésion en fonction de la force ionique et du temps de contact est présentée dans la figure 22.

Selon les résultats obtenus, on constate que l'adhésion microbienne des souches des *E. coli* varie largement en fonction du temps et de la force ionique du milieu environnant.

➤ Effet de la forte force ionique

Les résultats de l'adhésion microbienne des souches d'*E. coli* en variant la force ionique (0,1M ; 0,001M) pour chaque temps de contact (3h ; 18h) sont présentés dans la figure 22.

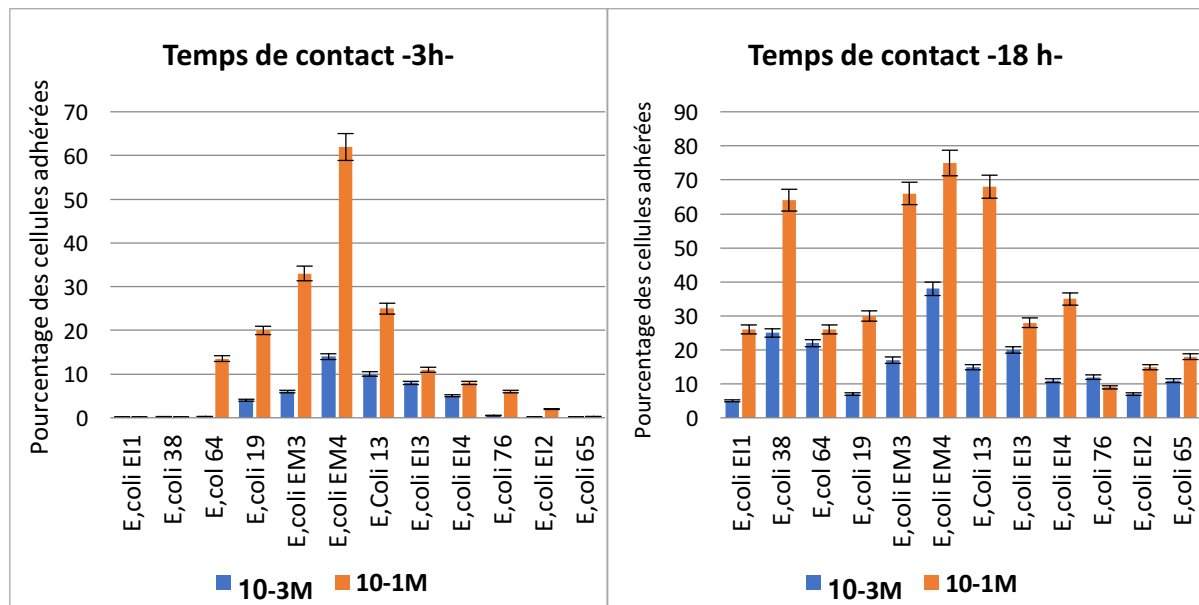


Figure 22 : Comparaison des pourcentages de la surface occupée par les cellules adhérentes des souches d'*Escherichia coli* à deux forces ioniques ($10^{-1}M$ - $10^{-3}M$) sur le verre

En augmentant la force ionique ($0,1M$) à 3 heures de temps de contact, nous remarquons que l'adhésion microbienne de plus de 67% des souches des *E. coli* augmente considérablement. Aussi, l'augmentation de la force ionique à 18 heures de temps de contact fait augmenter très remarquablement l'adhésion pour plus de 90% des souches d'*E. coli* étudiées.

Généralement, les souches d'*E. coli* ont montré une tendance marquante à adhérer sur le verre à une forte force ionique (faible interaction électrostatique) quel que soit le temps de contact. Ces résultats sont en accord avec ceux de Boonaert and Rouxhet, 2000, qui ont rapporté que l'adhésion des *E. coli* sur le verre est favorable lorsque les interactions électrostatiques sont réduites par une modification de la surface du verre (Boonaert and Rouxhet, 2000). Cette modification a consisté à traiter le verre par les ions positifs de l'Aluminium (Al^{3+}). L'adhésion faible des bactéries à faible force ionique peut être expliquée par une répulsion électrostatique entre les charges du même signe entre les bactéries et le verre.

Dans d'autres travaux, de nombreux auteurs ont montré l'implication des interactions électrostatiques dans l'adhésion de la levure sur des supports variés (Klotz et al., 1985, Mozes and Rouxhet, 1987, Gallardo-Moreno et al., 2002). Par exemple, Klotz et al. (1985) et Gallardo-Moreno et al. (2002) ont étudié l'adhésion d'espèces de *Candida* sur du polystyrène chargé négativement. Les deux équipes ont observé qu'une augmentation de la force ionique conduit à un nombre de levures adhérentes plus important, à cause de la diminution de la répulsion électrostatique entre la levure et le polystyrène.

Il est également important de noter qu'à forte force ionique, les cellules adhérentes d'*E. coli* (EM4, 13) ont formé des agrégations sur le verre aux deux temps de contact, notamment à 18h. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par (Hamadi et al., 2009) qui ont rapporté que les cellules adhérentes de *staphylococcus aureus* sur le verre sont distribuées sur toute la surface en formant des agrégats et que ce phénomène d'agrégation semble être plus important sur le téflon que sur le verre.

➤ Effet du temps de contact :

Les résultats de l'adhésion microbienne des souches d'*E. coli* en variant le temps de contact (3h ; 18h) pour chaque force ionique (0,1M ; 0,001M) sont présentés dans la figure 23.

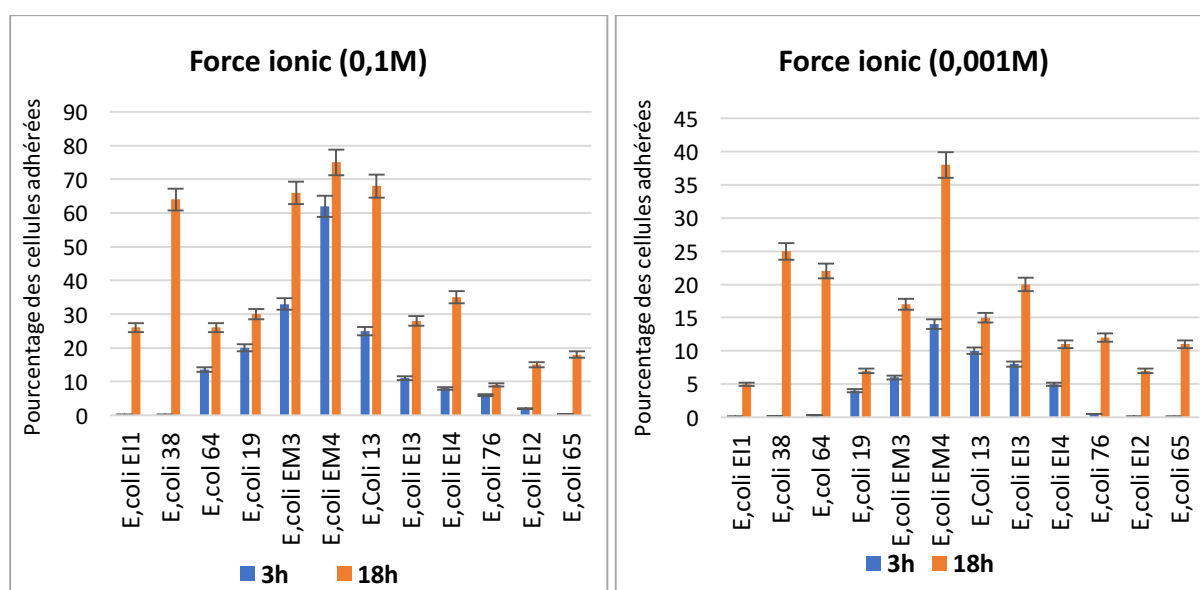


Figure 23 : Comparaison des pourcentages de la surface occupée par les cellules adhérentes des souches d'*E. coli* à deux temps de contact (3h et 18h) sur le support du verre

A forte et à faible force ionique (0,1M et 0,001M), *E. coli* a une tendance à augmenter son taux d'adhésion après un temps de contact de 18 heures qu'à 3 heures.

Nous avons remarqué que plus que 75% des souches ont un pourcentage d'adhésion dépassant 26% et arrivant à 75% après 18 heures de temps de contact (*E. coli* EM4).

Seulement 33% des souches ont un pourcentage d'adhésion dépassant 20% et arrivant à 62% après 3 heures de contact. En outre, à l'exception d'*E. coli* 76, toutes les souches qui n'ont pas adhéré fortement après 3 heures de contact, ont adhéré très significativement après 18 heures.

A une faible force ionique, 33% des souches des *E. coli* adhérentes au verre après 18h de contact ont un pourcentage d'adhésion entre 20% et 38% alors qu'aucune souche n'a dépassé 20% en pourcentage d'adhésion après 3 heures de contact au verre.

De façon générale, le temps de contact accentue davantage l'adhésion des souches. Ceci est en accord avec Zahir (2017) qui a rapporté que l'adhésion microbienne des souches d'*E. coli* sur le verre est très influencée par le temps de contact. En outre, Elabed et al. (2013) a montré que l'adhésion des spores de *Penicillium* sur le bois est plus significative à 24 heures de temps de contact qu'à 3 heures de contact. D'autres auteurs ont pu démontrer également que l'adhésion des cellules sur une plaque de verre devient plus forte après l'augmentation du temps de contact (Mercier-Bonin et al., 2004) ou d'incubation plus longue (Fletcher, 1996).

A travers ce travail, nous avons démontré que les conditions physico-chimiques du milieu ainsi que le temps de contact pourraient conditionner largement le comportement adhésif. Nous avons examiné la relation entre l'adhésion expérimentale et les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire en modifiant la force ionique et le temps de contact. Ceci nous a permis de constater à quel niveau le phénomène d'adhésion est variable et dépendant des conditions environnantes.

Les résultats obtenus montrent qu'une augmentation de la force ionique conduit à une augmentation de l'adhésion des *E. coli* aux deux temps de contact (3h et 18h). Cette augmentation peut être liée à une diminution des répulsions électrostatiques vu qu'à une force ionique élevée, la charge de la surface cellulaire est faible. D'après la théorie DLVO, une augmentation de la force ionique est accompagnée d'une diminution de la longueur de Debye. Cette diminution conduit à une réduction de la barrière énergétique qui va être surmontée par la cellule. Ainsi celle-ci adhère sur le support. Nos résultats sont en accord avec les résultats publiés par plusieurs auteurs (Jucker et al., 1996, Rijnaarts et al., 1996, Barnes et al., 1999); qui montrent que l'augmentation de la force ionique favorise l'adhésion microbienne sur un substrat.

La force ionique a un effet remarquable sur le pourcentage d'occupation de la surface du verre :

- L'augmentation de la force ionique entraîne une augmentation très nette du pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des *E. coli*.
- L'augmentation du temps de contact, combinée à l'augmentation de la force ionique, accentue davantage le pourcentage des cellules adhérentes à la surface du verre.

I.2. Relation entre les propriétés physico-chimiques et l'adhésion microbienne des *Escherichia coli* à deux forces ioniques

I.2.1. Etude de la corrélation entre les propriétés physico-chimiques et l'adhésion expérimentale des souches d'*Escherichia coli*

Si beaucoup de travaux ont étudié l'effet des facteurs environnementaux sur l'hydrophobicité et la charge électrostatique, peu d'entre eux concernant l'effet de ces facteurs sur le caractère donneur d'électrons / accepteur d'électrons ont été publiés (Hamadi and

Latrache, 2008, Briandet, 1999, Briandet et al., 1999a, Briandet et al., 1999b, Hamadi et al., 2004).

Dans ce contexte, nous avons effectué l'analyse de la corrélation multiple par SPSS v 20 entre les critères d'hydrophobicité, le caractère donneur/accepteur d'électrons et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à forte et à faible forces ioniques après 3 heures et 18 heures de contact. Le but de ce travail est de vérifier la relation entre ces caractéristiques physico-chimiques et l'adhésion microbienne sous différentes conditions expérimentales de force ionique et de temps.

- **A forte force ionique**

L'analyse de la corrélation multiple entre l'hydrophobicité qualitative (Θ_w), ΔG_{iwi} , le caractère donneur/accepteur d'électrons et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à forte force ionique après 3 heures et 18 heures, est examinée par le logiciel statistique SPSS v20 (tableaux 17 et 18).

Tableau 17 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Θ_w , ΔG_{iwi}), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à $10^{-1}M$ (KNO_3) après 3hrs et 18hrs des souches des *Escherichia coli* (EI1, 38, 64, 19, EM3) à caractère hydrophobe

| | | Matrice de corrélation | | | | | | |
|-------------|---|------------------------|------------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|-------------------|
| | | 3h 10^{-1} | 18h 10^{-1} | γ_{lw} (0,1M) | γ^+ (0,1M) | γ^- (0,1M) | ΔG_{iwi} (0,1M) | Θ_w (0,1M) |
| Corrélation | 3h-10^{-1} | 1,000 | ,259 | -,856 | ,014 | ,890 | ,908 | -,893 |
| | 18h-10^{-1} | ,259 | 1,000 | -,105 | ,599 | -,063 | -,033 | -,052 |
| | γ_{lw} (0,1M) | -,856 | -,105 | 1,000 | -,287 | -,700 | -,751 | ,652 |
| | γ^+(0,1M) | ,014 | ,599 | -,287 | 1,000 | -,414 | -,348 | ,402 |
| | γ^-(0,1M) | ,890 | -,063 | -,700 | -,414 | 1,000 | ,997 | -,990 |
| | ΔG_{iwi} (0,1M) | ,908 | -,033 | -,751 | -,348 | ,997 | 1,000 | -,985 |
| | Θ_w (0,1M) | -,893 | -,052 | ,652 | ,402 | -,990 | -,985 | 1,000 |

Pour les souches *d'E. coli* à caractère hydrophobe (EI1, 38, 64, 19, EM3), une forte corrélation positive et négative ($r_{\Delta G_{iwi}} = 0,908$; $r_{\Theta_w} = -0,893$) est obtenue entre l'hydrophobicité quantitative, celle qualitative et le pourcentage de cellules adhérees après 3h à une force ionique élevée (0,1 M). En outre, les résultats de corrélation montrent que l'adhésion microbienne de ces souches dépend fortement de leurs composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et leurs caractères donneurs d'électrons (γ^-).

Cependant, nous avons constaté qu'après 18heures de contact à forte force ionique, le pourcentage des cellules adhérees n'est plus corrélé avec les paramètres physico-chimiques des surfaces bactériennes. Nous remarquons également que le caractère donneur d'électrons diminue lorsque l'hydrophobicité (Θ_w) augmente. Les mêmes résultats ont été obtenus par

(Wu et al., 1994) qui a observé que le smectite et d'autres particules minérales deviennent très hydrophobes à cause d'une diminution du caractère donneur d'électrons.

Tableau 18 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Θ_w , $\Delta Giwi$), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons ($\gamma +$, $\gamma -$) et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre à $10^{-1}M$ (KNO_3) après 3hrs et 18hrs des souches des *Escherichia coli* (13, EI3, EI4, 76, EI2, 65) à caractère hydrophile

| Matrice de corrélation | | | | | | | | |
|------------------------|----------------------|-----------------|------------------|---------------------|-----------------|-----------------|---------------------|-------------------|
| | | 3h 10^{-1} | 18h 10^{-1} | $\gamma^{lw}(0,1M)$ | $\gamma+(0,1M)$ | $\gamma-(0,1M)$ | $\Delta Giwi(0,1M)$ | $\Theta_w (0,1M)$ |
| Corrélation | 3h- 10^{-1} | 1,000 | ,874 | ,858 | ,511 | -,223 | -,515 | ,493 |
| | 18h- 10^{-1} | ,874 | 1,000 | ,975 | ,181 | -,342 | -,504 | ,621 |
| | $\gamma^{lw} (0,1M)$ | ,858 | ,975 | 1,000 | ,099 | -,243 | -,386 | ,524 |
| | $\gamma+(0,1M)$ | ,511 | ,181 | ,099 | 1,000 | ,110 | -,288 | ,289 |
| | $\gamma-(0,1M)$ | -,223 | -,342 | -,243 | ,110 | 1,000 | ,912 | -,123 |
| | $\Delta Giwi(0,1M)$ | -,515 | -,504 | -,386 | -,288 | ,912 | 1,000 | -,263 |
| | $\Theta_w (0,1M)$ | ,493 | ,621 | ,524 | ,289 | -,123 | -,263 | 1,000 |

Par ailleurs, les souches des *E. coli* à caractère hydrophile (13, EI3, EI4, 76, EI2, 65) ont montré une forte corrélation positive entre leurs composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et le pourcentage des cellules adhérees après 3heures et 18heures de contact (tableau 18).

➤ **A faible force ionique :**

L'examen des résultats des matrices de corrélation à faible force ionique dans les mêmes conditions opératoires (tableau 19 et 20) a montré que, pour toutes les souches d'*E. coli* étudiées, aucune corrélation significative entre les paramètres physico-chimiques des surfaces bactériennes et le pourcentage des cellules adhérees n'a pu expliquer le comportement adhésif après 3heures et 18heures de contact à faible force ionique (0,001 M). Par ailleurs, nous avons constaté qu'il y a une forte corrélation positive entre le caractère accepteur d'électrons et l'hydrophobicité qualitative (Θ_w). En plus, nous remarquons une forte corrélation négative entre le caractère donneur d'électrons et l'hydrophobicité (Θ_w).

Tableau 19: Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Θ_w , $\Delta Giwi$), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérentes à la surface du verre à $10^{-3}M$ (KNO_3) après 3hrs et 18hrs des souches des *Escherichia coli* (EI1, 38, 64, 19, EM3) à caractère hydrophobe

| Matrice de corrélation | | | | | | | | |
|------------------------|---------------------------|-----------------|------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|
| | | 3h 10^{-3} | 18h 10^{-3} | γ_{lw} (0,001M) | γ^+ (0,001M) | γ^- (0,001M) | $\Delta Giwi$ (0,001M) | Θ_w (0,001M) |
| Corrélation | 3h- 10^{-3} | 1,000 | -,219 | -,121 | -,440 | ,228 | ,115 | -,613 |
| | 18h- 10^{-3} | -,219 | 1,000 | -,446 | -,607 | ,080 | -,160 | -,179 |
| | γ_{lw} (0,001M) | -,121 | -,446 | 1,000 | ,441 | -,832 | -,763 | ,616 |
| | γ^+ (0,001M) | -,440 | -,607 | ,441 | 1,000 | -,474 | -,145 | ,824 |
| | γ^- (0,001M) | ,228 | ,080 | -,832 | -,474 | 1,000 | ,939 | -,819 |
| | $\Delta Giwi$ (0,001M) | ,115 | -,160 | -,763 | -,145 | ,939 | 1,000 | -,608 |
| | Θ_w (0,001M) | -,613 | -,179 | ,616 | ,824 | -,819 | -,608 | 1,000 |

Tableau 20 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités de surface (Θ_w , $\Delta Giwi$), les composantes de Van der Waals (γ^{LW}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérentes à la surface du verre à $10^{-3}M$ (KNO_3) après 3hrs et 18hrs des souches des *Escherichia coli* (EI1, 38, 64, 19, EM3) à caractère hydrophile

| Matrice de corrélation | | | | | | | | |
|------------------------|---------------------------|-----------------|------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|
| | | 3h 10^{-3} | 18h 10^{-3} | γ_{lw} (0,001M) | γ^+ (0,001M) | γ^- (0,001M) | $\Delta Giwi$ (0,001M) | Θ_w (0,001M) |
| Corrélation | 3h- 10^{-3} | 1,000 | -,219 | -,121 | -,440 | ,228 | ,115 | -,613 |
| | 18h- 10^{-3} | -,219 | 1,000 | -,446 | -,607 | ,080 | -,160 | -,179 |
| | γ_{lw} (0,001M) | -,121 | -,446 | 1,000 | ,441 | -,832 | -,763 | ,616 |
| | γ^+ (0,001M) | -,440 | -,607 | ,441 | 1,000 | -,474 | -,145 | ,824 |
| | γ^- (0,001M) | ,228 | ,080 | -,832 | -,474 | 1,000 | ,939 | -,819 |
| | $\Delta Giwi$ (0,001M) | ,115 | -,160 | -,763 | -,145 | ,939 | 1,000 | -,608 |
| | Θ_w (0,001M) | -,613 | -,179 | ,616 | ,824 | -,819 | -,608 | 1,000 |

La corrélation entre le caractère accepteur d'électrons et l'hydrophobicité peut être obtenue seulement lorsque les interactions électrostatiques sont fortes. Quant à l'adhésion des *E. coli*, il n'y a aucune relation claire et nette entre les caractéristiques des surfaces bactériennes et le pourcentage des cellules adhérentes pour les deux temps de contact à faibles forces ioniques.

L'étude de la corrélation entre les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire à deux forces ioniques et le pourcentage des cellules adhérees au verre a montré que :

- Les *E. coli* à caractère hydrophobe ont une forte corrélation entre leurs hydrophobicités (quantitative et qualitative) à (3h, $10^{-1}M$) et leurs adhésions microbiennes au verre.
- L'adhésion microbienne des *E. coli* à caractère hydrophobe dépend fortement de leurs composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et leurs caractères donneurs d'électrons (γ).
- Le pourcentage d'adhésion des *E. coli* à caractère hydrophobe à (18h, $10^{-1}M$) ne corrèle plus avec les paramètres physico-chimiques des surfaces bactériennes.
- Les souches des *E. coli* à caractère hydrophile ont montré une forte corrélation positive entre leurs composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et le pourcentage des cellules adhérees après 3heurs et 18heurs de contact.
- Toutes les souches d'*E. coli* étudiées à (3h, $10^{-3}M$) et (18h, $10^{-3}M$) n'ont montré aucune corrélation significative entre les paramètres physico-chimiques des surfaces bactériennes et le pourcentage des cellules adhérees sur le verre.

II. Adhésion microbienne des salmonelles sur le verre

II.1. Etude d'adhésion des salmonelles à deux forces ioniques et à deux temps de contact

Dans cette partie, nous avons étudié le comportement adhésif des 5 souches de salmonelles (*S. muenster*, *S. newport*, *S. kentucky*, *S. infantis* et *S. mbandaka*) à deux forces ioniques ($10^{-1}M$, $10^{-3}M$) et à deux temps de contact (3h ; 18h).

Le pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérees est évalué par un programme sur logiciel Matlab. Les résultats sont présentés dans la figure 24. Les observations des tests d'adhésion sont également présentées dans la figure 25.

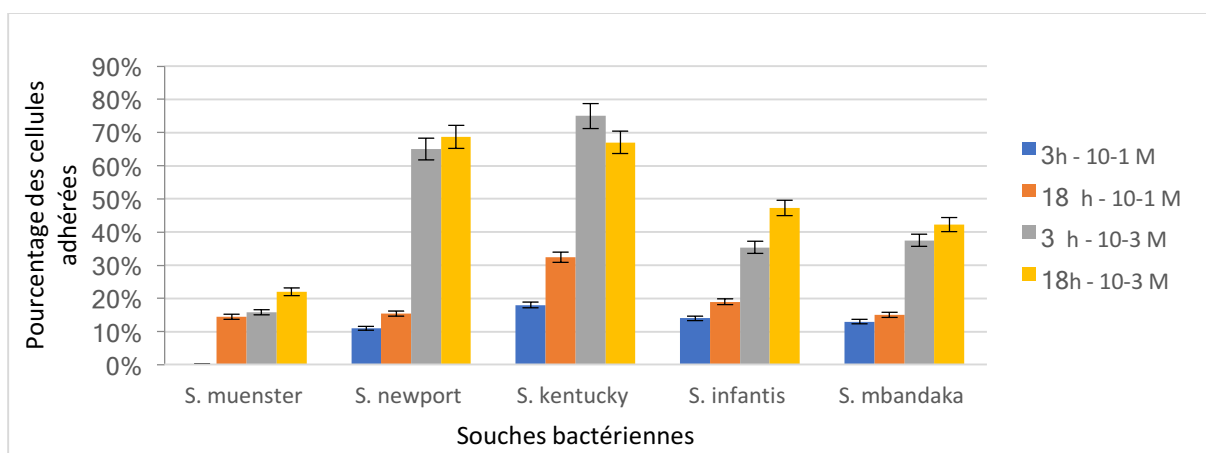


Figure 24 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérees des souches (*S. muenster*, *S. newport*, *S. kentucky*, *S. infantis*, *S. mbandaka*) à deux forces ioniques ($10^{-1}M$, $10^{-3}M$) et à deux temps de contact (3h ; 18h).

| Temps de contact Force ionique KNO ₃ Souches | 3h | | 18h | |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | 10 ⁻¹ M KNO ₃ | 10 ⁻³ M KNO ₃ | 10 ⁻¹ M KNO ₃ | 10 ⁻³ M KNO ₃ |
| <i>S. muenster</i> | | | | |
| <i>S. newport</i> | | | | |
| <i>S. kentucky</i> | | | | |
| <i>S. infantis</i> | | | | |
| <i>S. mbandaka</i> | | | | |

Figure 25 : Observation microscopiques des cellules des salmonelles *S. muenster*, *S. newport*, *S. kentucky*, *S. infantis*, *S. mbandaka* adhérées sur le verre (Gx400) à deux forces ioniques ($10^{-1}M, 10^{-3}M$) et à deux temps de contact (3h, 18h).

Les résultats d'adhésion microbienne obtenus (figures 24 et 25), relative au pourcentage des cellules adhérées aux surfaces du verre, montrent qu'à 3 heures de contact et à forte force ionique (0,1M), les 5 souches *S. muenster*, *S. newport*, *S. kentucky*, *S. infantis*, *S. mbandaka*, adhèrent faiblement aux surfaces du verre avec des pourcentages d'adhésion respectivement (0,2%, 11%, 18%, 14% et 13%). Cependant, en diminuant la force ionique (0,001M) pour le même temps de contact (3h), l'adhésion microbienne de toutes les souches étudiées devient très significative avec des pourcentages d'adhésion respectivement (15,8%, 65%, 75%, 35,4% et 37,4%). Cette adhésion est très importante pour les souches *S. newport*, *S. kentucky* par rapport aux autres.

Après 18 heures de temps de contact, toutes les souches ont une tendance à adhérer aux surfaces du verre à une faible force ionique (0,001M) qu'à une forte force ionique en passant respectivement de (14,5%, 15,5%, 32,4%, 19% et 15%) à des valeurs de (22%, 68,7%, 67%, 47,3% et 42,2%). Cette adhésion est très accentuée pour les souches *S. newport*, *S. kentucky* par rapport aux autres *salmonelles*.

Le pourcentage d'adhésion de toutes les souches a augmenté considérablement en prolongeant le temps de contact (18h).

Il est également important de noter qu'à faible force ionique, les cellules adhérées des souches *S. newport* et *S. kentucky* sont sous forme d'agrégats sur le support du verre aux deux temps de contact. Ces résultats sont différents de ceux trouvés précédemment sur les souches des *E. coli* qui ont une tendance à former des agrégats à forte force ionique.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de notre équipe de recherche notamment, ceux de (Mliji, 2009) qui a montré que l'adhésion microbienne de trois souches de salmonelles sur le support de l'acier inoxydable 304 est très favorisée après 18heures de contact qu'après 3 heures d'adhésion.

La variation des pourcentages d'adhésion entre les souches microbiennes étudiées même en appliquant une faible force ionique montre que l'adhésion microbienne des souches de salmonelles dépend en partie de la force ionique et en d'autres parties des facteurs liés à la nature de la souche et à ses propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire.

- L'adhésion des souches des salmonelles sur le verre est très favorisée à une faible force ionique 0,001M par rapport à la forte force ionique (0,1M).
- Le prolongement du temps de contact exerce un effet marquant sur l'adhésion des souches de salmonelles en augmentant le pourcentage des cellules adhérées.
- Contrairement aux souches des *E. coli* étudiées, la diminution de la force ionique entraîne une augmentation très nette du pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des salmonelles.

II.3. Relation entre les propriétés physico-chimiques et l'adhésion microbienne des salmonelles à deux forces ioniques

En analysant une comparaison des résultats de la caractérisation de la surface cellulaire des salmonelles étudiées et les résultats de l'adhésion expérimentale à deux forces ioniques, nous pouvons constater que l'augmentation de l'adhésion microbienne des salmonelles à faible force ionique (0,001 M) semble être influencée par leurs propriétés physicochimiques. En effet, le caractère hydrophobe (Θ_w) et les faibles valeurs des composantes donneurs d'électrons (γ^-) de *S. kentucky* et *S. newport* à faible force ionique (tableau 21) augmentent fortement leur capacité d'adhésion sur le verre comparativement avec une forte force ionique pour les deux temps d'adhésion appliqués (3h ; 18h).

Plusieurs études ont montré que l'adhésion des bactéries dépend en partie de la nature des surfaces inertes et en partie des propriétés de surface des bactéries (Hood and Zottola, 1997, Carballo et al., 1992, Chamberlain and Johal, 1988). De plus, l'hydrophobie et la charge de surface sont les propriétés de surface les plus importantes dans le processus d'adhésion, comme l'ont démontré plusieurs études (Pereira et al., 2000, Teixeira and Oliveira, 1999, Hood and Zottola, 1997, Millsap et al., 1997, Van Loosdrecht et al., 1987).

Selon (Bitton et al., 1976), l'augmentation de la force ionique augmenterait l'adhésion dans le sens où elle renforcerait les forces attractives de Van der Waals, alors que pour (Farrah et al., 1981). Ce sont les interactions hydrophobiques qui sont renforcées. Par ailleurs, ces effets très variables (augmentations ou diminutions) de la force ionique sur l'adhésion ont été également rapportés par plusieurs auteurs en justifiant cette différence suivant le type de protéine (e.g. BSA, γ -globuline, fibrinogène), de surface et la nature du pH de la solution (Soderquist and Walton, 1980). Aussi, (Sheng et al., 2008) ont montré qu'une diminution de la force ionique de la solution améliore l'adhésion bactérienne de *Pseudomonas sp.* NCIMB 2021 et *Desulfovibrio (Dillman Jr and Miller, 1973) desulfuricans* ATCC 27774 aux surfaces métalliques en raison de la plus grande force d'attraction électrostatique.

Dans d'autres travaux, certains auteurs n'ont pas trouvé d'influence de la force ionique du milieu sur l'adhésion bactérienne. Par exemple, l'équipe de Mercier-Bonin (2004) a testé des solutions salines de 0,2 ; 0,9 et 2% w/v correspondant à une force ionique de 33, 150 et 330 mM respectivement. Ceci n'a pas eu de réelle influence sur l'adhésion de levures initialement emballées sous formes d'agrégats secs en forme de tiges. Vallido-Rodriguez a trouvé une adhésion similaire sur des surfaces hydrophobes et hydrophiles avec des forces ioniques variant de 10 à 100 mM (solution tampon de KCl) (Vadillo-Rodriguez et al., 2005).

Le milieu de suspension présente de nombreux paramètres tous aussi importants. Parmi eux, la composition et la force ionique influent nettement sur la capacité cellulaire à adhérer. En effet, les énergies inter-faciales entre la bactérie, le milieu et le substrat jouent, comme nous l'avons vu précédemment sur l'adhésion (Stanley, 1983).

L'augmentation de l'adhésion microbienne des salmonelles à faible force ionique (0,001 M) semble être influencée par leurs propriétés physicochimiques :

- Le caractère hydrophobe (Θ_w) et les faibles valeurs du caractère donneur d'électrons (γ^-) de *S. kentucky* et *S. newport* augmentent fortement leur adhésion sur le verre à faible force ionique pour les deux temps d'adhésion appliqués (3h ; 18h).
- L'adhésion microbienne des souches de salmonelles dépend de la force ionique, des propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire et de la nature de la souche.

Il est important de noter que les résultats de l'adhésion prédictive du chapitre précédent ont rapporté que toutes les souches de salmonelles et *Escherichia coli* ne pouvaient pas adhérer au verre à forte force ionique et 3 heures de contact à l'exception des souches *E. coli* E11 et 38. Ces résultats sont en contradiction avec ceux obtenus par l'adhésion expérimentale sur le verre. Ceci montre que l'approche théorique n'a pas pu totalement expliquer le phénomène d'adhésion sur le verre car il semblerait qu'il y a d'autres interactions qui pourraient intervenir dans ce processus et qui ne sont pas prises en compte dans l'approche théorique.

CONCLUSION

Le phénomène d'adhésion est variable et dépendant des conditions environnantes. Les résultats de cette partie, nous ont permis de constater que l'influence des propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire sur l'adhésion des *E. coli* et des salmonelles sur le verre est fortement conditionnée par la maîtrise de la force ionique du milieu environnant des bactéries ce qui peut intervenir favorablement ou défavorablement dans le phénomène d'adhésion microbienne.

Les résultats obtenus montrent qu'une augmentation de la force ionique conduit à une augmentation de l'adhésion des *E. coli* aux deux temps de contact (3h et 18h).

Ce phénomène est inverse pour les souches des salmonelles. En effet, l'adhésion microbienne des salmonelles de notre étude est très favorisée à faible force ionique.

Le pourcentage des cellules adhérees des *E. coli* à caractère hydrophobe corrèle fortement avec les valeurs des hydrophobicités à forte force ionique et 3 heures de contact. L'adhésion microbienne de ces souches dépend fortement de leurs composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et de leurs caractères donneurs d'électrons (γ^-).

Les souches des *E. coli* à caractère hydrophile ont montré une forte corrélation positive entre leurs composantes de Van der Waals (γ^{LW}) et le pourcentage des cellules adhérees après 3heures et 18heures de contact.

Pour tous les temps de contact, le caractère hydrophobe et les faibles valeurs du caractère donneur d'électrons (γ^-) de *S. kentucky* et *S. newport* augmentent fortement leur adhésion sur le verre à faible force ionique.

L'adhésion microbienne des souches de salmonelles et des *E. coli* étudiées dépend de la force ionique, des propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire et de la nature de la souche.

Le comportement adhésif des deux genres étudiés dépend fortement de la force ionique. Le phénomène d'agrégation semble être fortement dépendant de la force ionique et le type de souches étudiés.

L'approche théorique n'a pas pu totalement expliquer le phénomène d'adhésion expérimentale des salmonelles et des *E. coli* de notre étude sur le verre. D'autres interactions pourraient intervenir dans le processus d'adhésion et qui ne sont pas prises en compte dans l'approche théorique.

Ce travail nous a permis de valider expérimentalement les conditions favorables de l'adhésion microbienne de nos souches d'étude, ce qui nous facilitera le choix des conditions opératoires dans nos études de désinfection notamment le choix des bactéries, la force ionique du milieu et le temps de contact (temps d'adhésion).

DEUXIEME PARTIE :

L'hygiène des surfaces en environnement agroalimentaire est un facteur déterminant de la qualité des produits transformés. Ainsi, des opérations de nettoyage et de désinfection sont donc mises en place afin que les surfaces en IAA soient maintenues dans un état de propreté satisfaisant. Bien que ces opérations éliminent la quasi-totalité des souches microbiennes à l'état planctonique, les cellules à l'état adhérentes sous forme de biofilm peuvent survivre et poser un risque majeur de biocontamination.

Dans ce sens, un choix efficient des désinfectants doit être évalué scientifiquement en étudiant non seulement l'efficacité sur l'état planctonique mais également la valider sur l'état adhérent des bactéries. Par ailleurs, l'évaluation des modifications, que peut engendrer leurs utilisations, sur les propriétés physicochimiques de surface et toutes les conséquences liées à la bio-adhésion, est d'une importance primordiale.

Pour ce, nous nous sommes focalisés sur deux études de cas :

- ◆ Cas I : Etude de l'efficacité de plusieurs protocoles de désinfection sur l'état adhérent des souches pathogènes d'origine alimentaire.
- ◆ Cas II : Etude de l'effet de l'utilisation des désinfectants sur les caractéristiques des surfaces couramment rencontrées en IAA et toutes les conséquences sur l'adhésion microbienne des souches pathogènes.

Les chapitres de cette partie sont organisés comme suit :

- ∞ *Chapitre IV. Etude de l'efficacité des protocoles de désinfection sur l'adhésion microbienne des souches d'Escherichia coli et des salmonelles.*
- ∞ *Chapitre V. Etude de l'effet des traitements de désinfection sur les propriétés des surfaces du verre et des aciers inoxydables (304, 304L, 316L).*
- ∞ *Chapitre VI. Etude de l'adhésion microbienne des Escherichia coli et des salmonelles sur les supports traités par les désinfectants : Approche prédictive.*
- ∞ *Chapitre VII. Evaluation de l'effet des traitements de la surface du verre par les désinfectants sur la capacité d'adhésion des Escherichia coli et salmonelles.*

CHAPITRE IV : ETUDE DE L'EFFICACITE DES PROTOCOLES DE DESINFECTION SUR L'ADHESION DES SOUCHES D'*ESCHERICHIA COLI* ET *DES SALMONELLES*

INTRODUCTION

La biocontamination des surfaces reste un problème d'actualité dans de nombreux secteurs d'application et en particulier dans les industries agro-alimentaires. Pour réduire ou éliminer les germes indésirables, l'utilisation des agents chimiques est régulièrement pratiquée avec une plus ou moins grande efficacité.

Bien que ces traitements biocides éliminent la plupart des contaminations de surface notamment quand les cellules sont à l'état planctonique, ces microorganismes à l'état adhérent peuvent survivre et poser de graves problèmes de santé publique. En effet, plusieurs travaux ont rapporté que les bactéries adhérentes semblent moins sensibles aux opérations de nettoyage et de désinfection par rapport aux bactéries en suspension (Eginton et al., 1998, Briandet, 1999, Norwood and Gilmour, 2000).

Récemment, de nombreuses recherches sont en cours pour déterminer les mécanismes mis en jeu dans la résistance des bactéries à l'état de biofilm aux produits de nettoyage et désinfection. A notre connaissance, les études traitant l'efficacité des produits de désinfection sur l'adhésion, qui est l'étape clé de la formation de biofilm, sont très limités.

Dans ce sens, nous nous sommes focalisés dans cette étude sur l'évaluation de l'efficacité des désinfectants sur l'adhésion microbienne des souches d'*E. coli* et des salmonelles couramment rencontrées dans les industries alimentaires.

Nous avons choisi deux désinfectants l'un à base d'hypochlorite de sodium et l'autre à base de peroxyde d'hydrogène. Ces derniers font partie de la liste des produits de désinfections autorisés et recommandés par l'ONSSA pour leurs spectres d'efficacité importante sur les germes pathogènes. En outre, ces deux produits sont très utilisés dans les procédures de nettoyage et désinfection dans les industries agroalimentaires pour leurs coûts abordables (Hypochlorite de sodium) et leurs faibles corrosivités des matériaux des équipements (peroxyde d'hydrogène).

Nous nous sommes limités à 2 souches d'*E. coli* (*E. coli* EM3 ; *E. coli* EM4) et 2 souches de salmonelles (*S. newport* ; *S. kentucky*) d'origine alimentaire. Le pouvoir d'adhérence très important de ces souches, prouvé dans la première partie, a motivé le choix de ces bactéries.

Pour ce, nous avons évalué le pourcentage des cellules des souches qui restent adhérentes au verre après différents protocoles de désinfection. Par la suite, nous avons également vérifié si ces cellules persistantes après désinfection sont encore vivantes.

I. Effet des protocoles de désinfection par l'hypochlorite de sodium sur les bactéries adhérees

I.1. Effet du désinfectant hypochlorite de sodium sur les souches adhérees d'*E. coli*

Les résultats des observations des cellules adhérees des souches d'*E. coli* (*EM3*) et (*EM4*) au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium en fonction des concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) sont présentés dans les figures 26, 27 et 28 et le tableau 21.

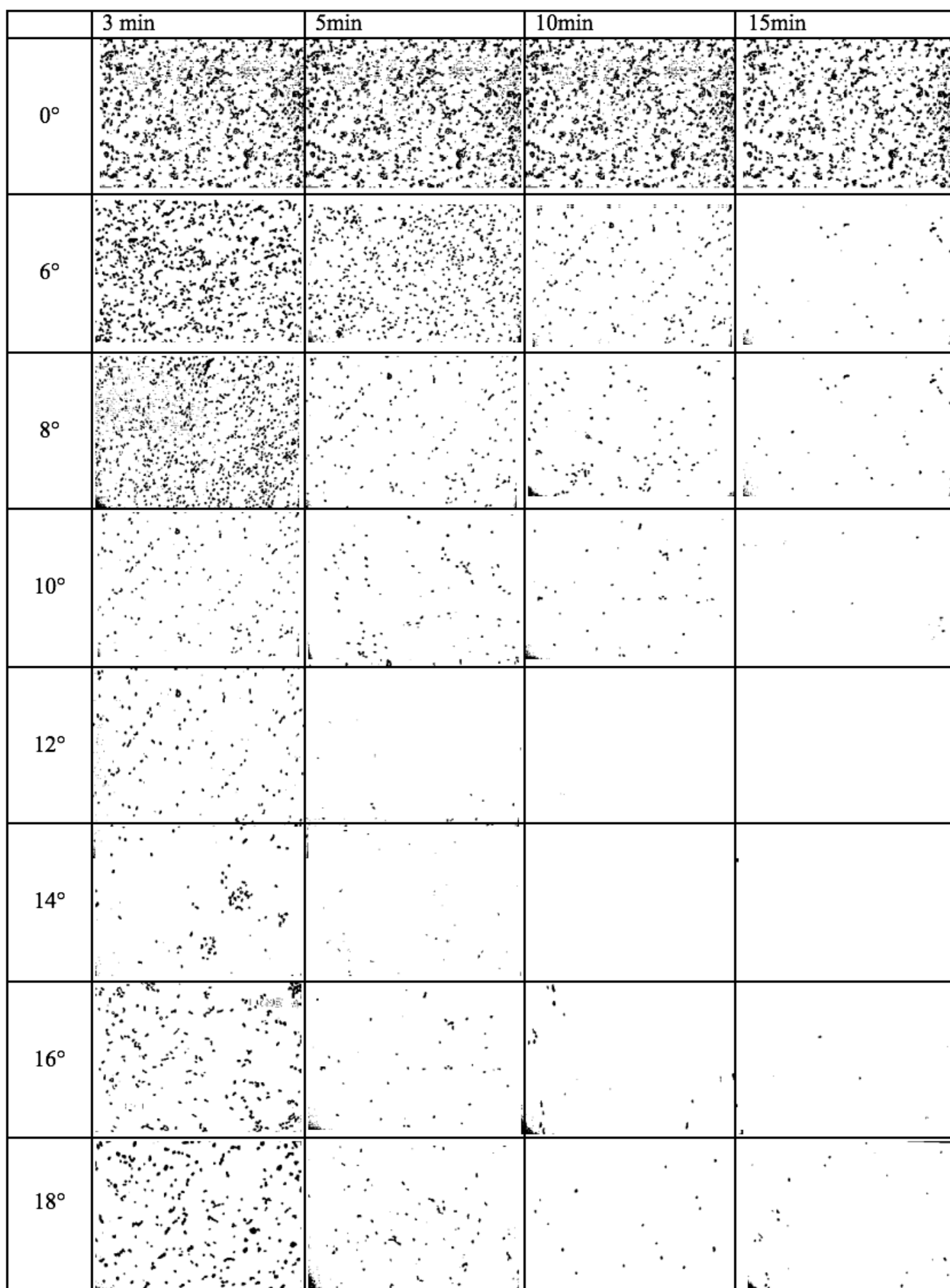


Figure 26 : Observations microscopiques des cellules d'*E. coli* (EM3) qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400).

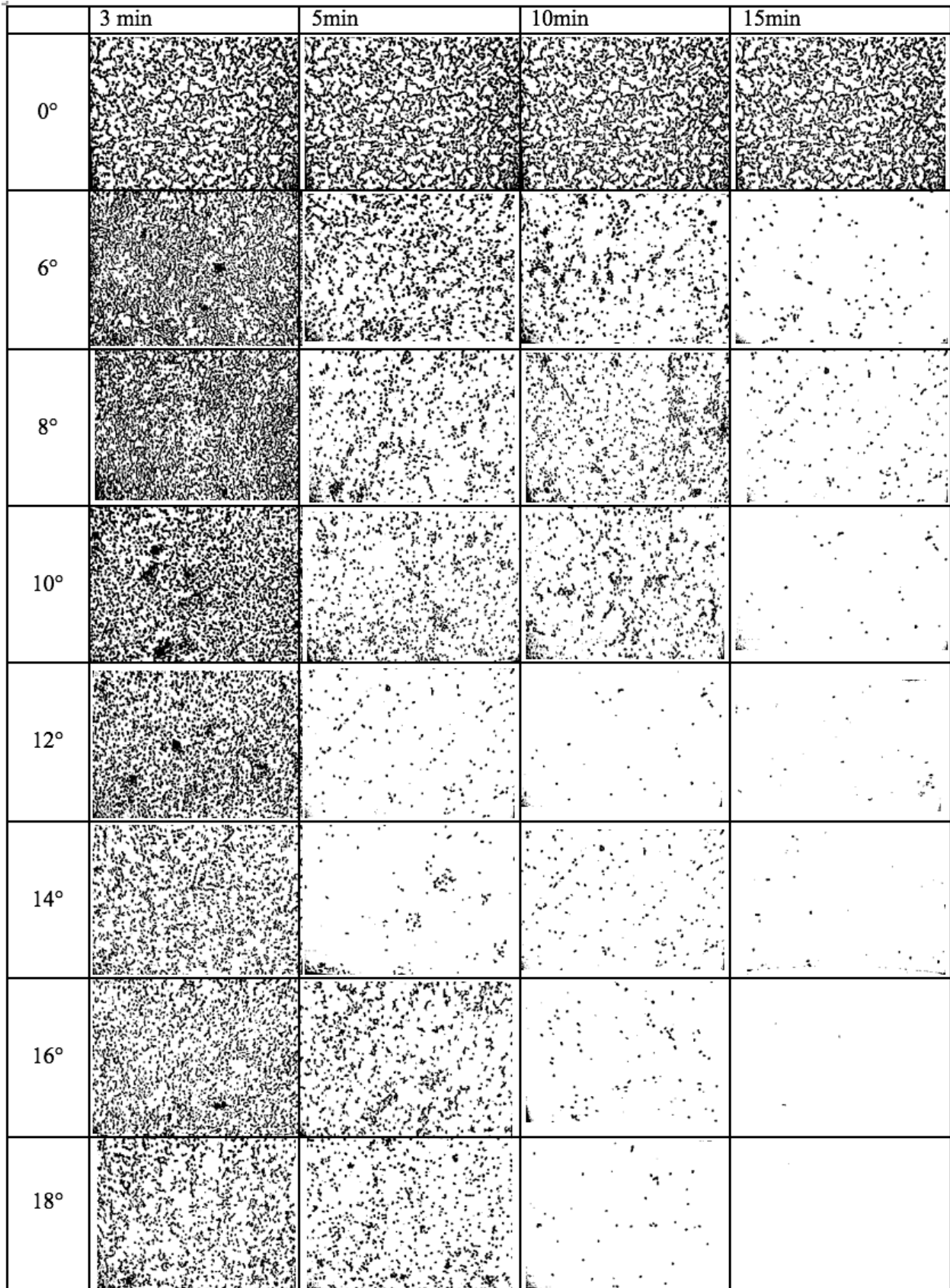


Figure 27 : Observations microscopiques des cellules d'*E. coli* (*EM4*) qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400)

Tableau 21 : Pourcentage des cellules d'*E. coli* (EM3) et (EM4) qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min)

| Souche | Concentration (°Chl) Temps | 0° | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
|-----------------------|----------------------------------|----|------|------|------|-----|-----|------|------|
| | | | | | | | | | |
| <i>E. coli</i> EM3 | 3 min | 33 | 28 | 22,5 | 10,5 | 8,6 | 7,5 | 11,7 | 13,6 |
| | 5 min | 33 | 15,7 | 9,8 | 6,2 | 0,4 | 0,2 | 1,9 | 2,8 |
| | 10 min | 33 | 10,1 | 8 | 4,5 | 0 | 0 | 0,8 | 0,2 |
| | 15 min | 33 | 5,2 | 2,3 | 0,3 | 0 | 0 | 0 | 0,1 |
| <i>E. coli</i> EM4 | 3 min | 62 | 65 | 65,5 | 64 | 64 | 61 | 62,8 | 58,7 |
| | 5 min | 62 | 57,9 | 41 | 40,8 | 7,5 | 8,3 | 35,2 | 21,8 |
| | 10 min | 62 | 40 | 42 | 20,2 | 0,6 | 7 | 5,9 | 0,3 |
| | 15 min | 62 | 6,2 | 7,1 | 0,3 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0 |

Efficace (%d'adhésion<1)

Moyennement efficace (1≤%d'adhésion≤9)

Non efficace (%d'adhésion≥10)

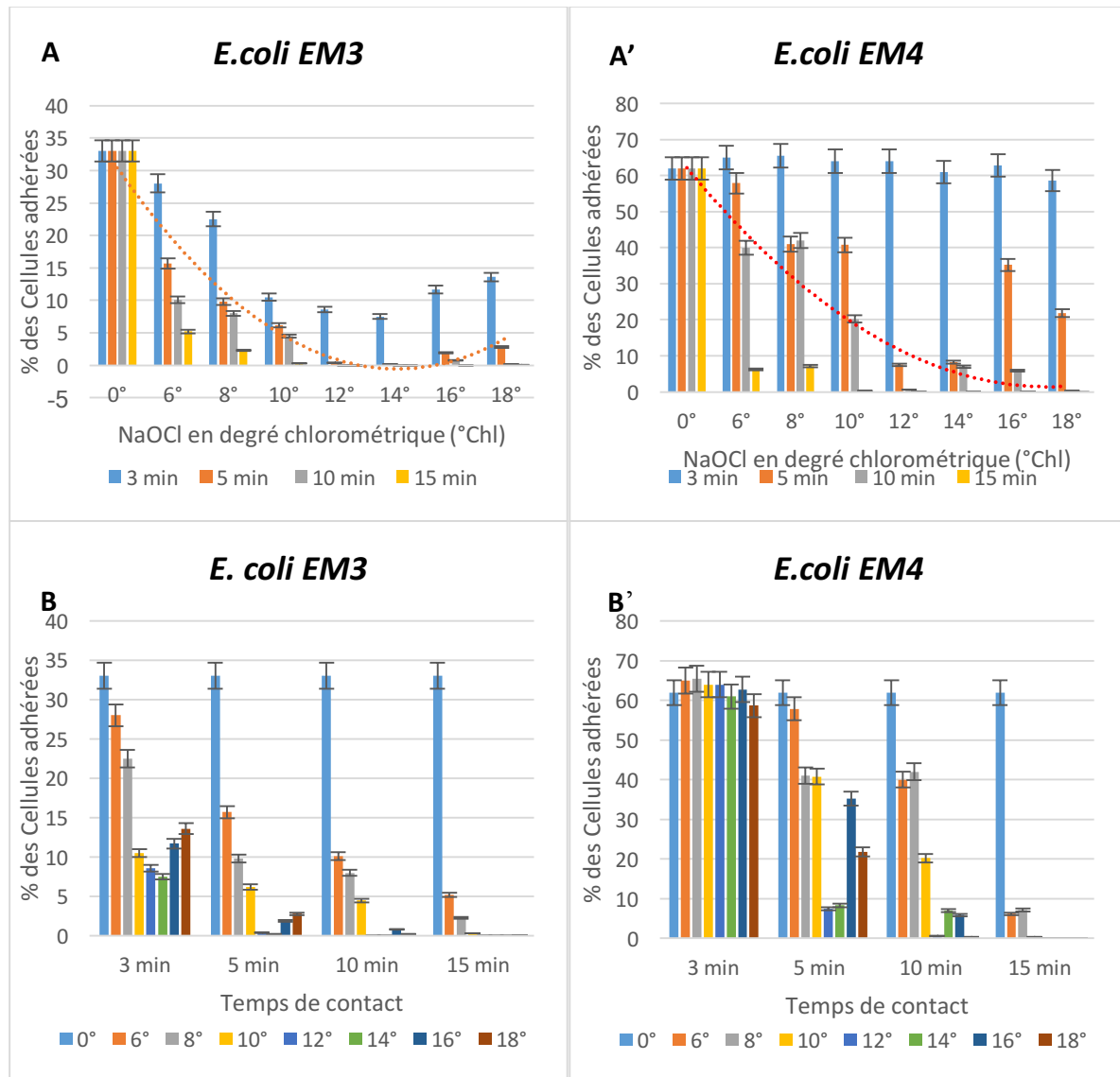


Figure 28 : Variation du pourcentage des cellules d'*E. coli EM3* et *EM4* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min)

A et A' : Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction de la concentration de l'hypochlorite de sodium

B et B' : Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction du temps de contact

Quel que soit le temps d'application du désinfectant, nous remarquons que le pourcentage des cellules adhérentes des *E. coli EM3* et *EM4* diminue en augmentant la concentration de l'hypochlorite de sodium appliquée.

A partir de 15 minutes de traitement, la désinfection des cellules adhérentes semble être efficace à partir de la concentration 10°Chl pour les deux souches d'*E. coli EM3* et *EM4*. En diminuant le temps de traitement à 10min, la désinfection semble être efficace aux concentrations à partir de 12°Chl pour la souche *E. coli EM3* et seulement aux concentrations 12° et 18°Chl pour la souche *E. coli EM4*. En passant à un temps d'application de 5 minutes,

les concentrations 12° et 14°Chl de l'hypochlorite de sodium semblent être encore efficace sur *E. coli* EM3.

Aussi, la résistance des cellules adhérees d'*E. coli* EM4 à toutes les concentrations appliquées est importante à 3 minutes et 5 minutes de traitements. Cependant, la souche *E. coli* EM3 est résistante à toutes les concentrations étudiées à 3 minutes de temps de traitement.

Pour toutes les concentrations de désinfection appliquées, nous remarquons que l'élévation du temps de traitements en passant de 3 minutes à 15 minutes augmente fortement l'efficacité de l'hypochlorite de sodium.

La souche d'*E. coli* EM4 semble être plus résistante au protocole de désinfection par l'hypochlorite de sodium que la souche *E. coli* EM3. Ceci montre que l'efficacité de l'hypochlorite de sodium sur l'adhésion microbienne des souches d'*E. coli* EM3 et EM4 dépend fortement de la concentration appliquée, du temps de contact et également de la bactérie étudiée.

☞ Analyse de la régression

Dans le but de révéler la nature de cette relation entre le pourcentage des cellules adhérees, la concentration étudiée et le temps d'application du désinfectant, nous avons analysé statistiquement le type de régression qui exprime le mieux cette relation.

Les valeurs exprimées dans le tableau 21 montrent que la tendance de variation n'était pas linéaire. En effet, le calcul de la régression a montré que le modèle donnant le meilleur coefficient de détermination R^2 est la régression polynomiale d'ordre 2. Les résultats de l'équation de la régression et le coefficient de détermination sont présentés dans le tableau 22.

Tableau 22: Analyse de la régression entre le pourcentage des cellules d'*E. coli* (EM3 ;EM4) qui restent adhérees et les concentrations d'hypochlorite de sodium (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ;16° et 18° Chl) par rapport à chaque temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min)

Régression Polynomiale d'ordre 2

| Souches | Temps | Equation | R ² |
|-----------------------|--------|--------------------------------|----------------|
| <i>E. coli</i> EM3 | 3 min | $y = 1,25x^2 - 16,2x + 61,65$ | 61,12% |
| | 5 min | $y = 1,22 x^2 - 14,74x + 43,9$ | 96,80% |
| | 10 min | $y = 1,17 x^2 - 14,1x + 40,9$ | 89,41% |
| | 15 min | $y = 1,3 x^2 - 15,3x + 39,6$ | 79% |
| <i>E. coli</i> EM4 | 3 min | $y = -0,56 x^2 + 3,5x + 64,7$ | 55,08% |
| | 5 min | $y = 1,7 x^2 - 21,8x + 88,4$ | 72,58% |
| | 10 min | $y = 1,32 x^2 - 20,6x + 81,8$ | 90,99% |
| | 15 min | $y = 2,48 x^2 - 28,1x + 72,7$ | 76% |

L'analyse de la régression entre le pourcentage des cellules d'*E. coli* (EM3 ; EM4) qui restent adhérentes au verre et les concentrations étudiées de l'hypochlorite de sodium (0°, 6°, 8°, 12°, 14°, 16° et 18°Chl) a montré une corrélation polynomiale d'ordre 2 importante à partir de 5 minutes de traitement (tableau 22). Ceci indique qu'en augmentant la concentration du traitement de désinfection, le pourcentage des cellules d'*E. coli* EM3 et EM4 restant adhérentes, diminue significativement en suivant l'équation de la régression ($y=ax^2+bx+c$).

Cette corrélation est significative aux temps d'application 5min, 10min et 15min. Cette corrélation devient très importante à 5min et 10min de temps d'application du désinfectant sur la souche *E. coli* EM3. Par contre, cette corrélation est très importante à 10min de temps de désinfection pour *E. coli* EM4.

- Pour chaque temps d'application, le pourcentage des cellules des *E. coli* EM3 et EM4 qui restent adhérentes diminue en augmentant la concentration de l'hypochlorite de sodium.
- La désinfection de l'adhésion d'*E. coli* EM3 et EM4 semble être efficace à partir de la concentration 10°Chl après 15min de temps d'application.
- En diminuant le temps de traitement à 10min, la désinfection semble être efficace à partir de la concentration 12°Chl pour la souche *E. coli* EM3 et seulement aux concentrations 12° et 18°Chl pour la souche *E. coli* EM4.
- Pour toutes les concentrations appliquées, l'élévation du temps de traitement augmente fortement l'efficacité de l'hypochlorite de sodium.
- La souche d'*E. coli* EM4 semble être plus résistante au protocole de désinfection par l'hypochlorite de sodium que la souche *E. coli* EM3.
- L'efficacité de l'hypochlorite de sodium sur l'adhésion microbienne des souches d'*E. coli* EM3 et EM4 dépend fortement de la concentration appliquée, du temps de contact et de la souches étudiée.
- L'analyse de la régression entre le pourcentage des cellules d'*E. coli* (EM3; EM4) qui restent adhérentes au verre et les concentrations étudiées, a montré une corrélation polynomiale d'ordre 2 importante à partir de 5 minutes de traitement.

I.2. Effet du désinfectant hypochlorite de sodium sur les souches adhérentes des salmonelles

Les résultats des observations microscopiques des cellules de *S. newport* et *S. kentucky* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium en fonction des concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) sont présentés dans les figures 29, 23 et 24 et le tableau 23.

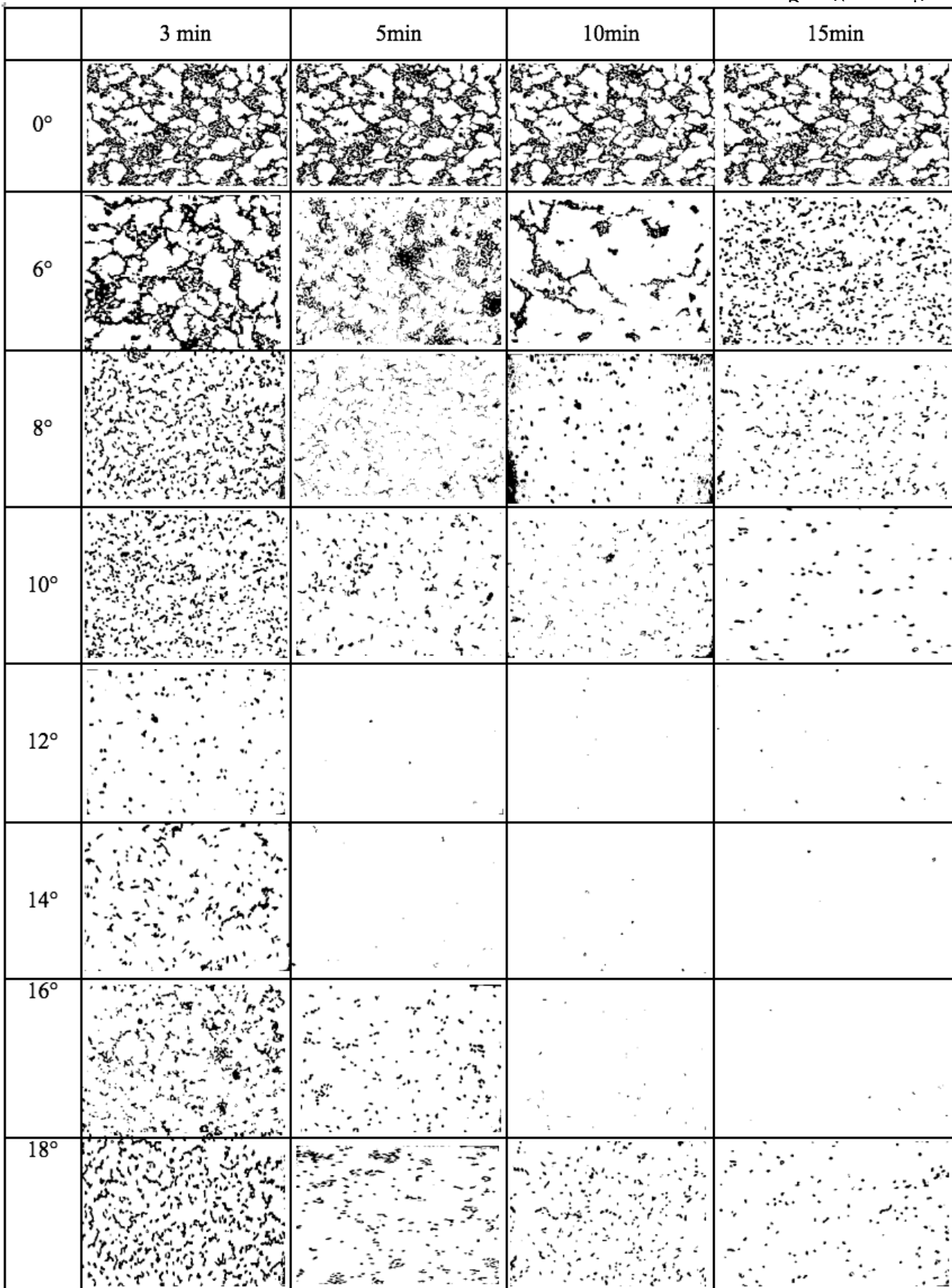


Figure 29 : Observations microscopiques des cellules de *S. newport* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) de l'hypochlorite de sodium et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400)

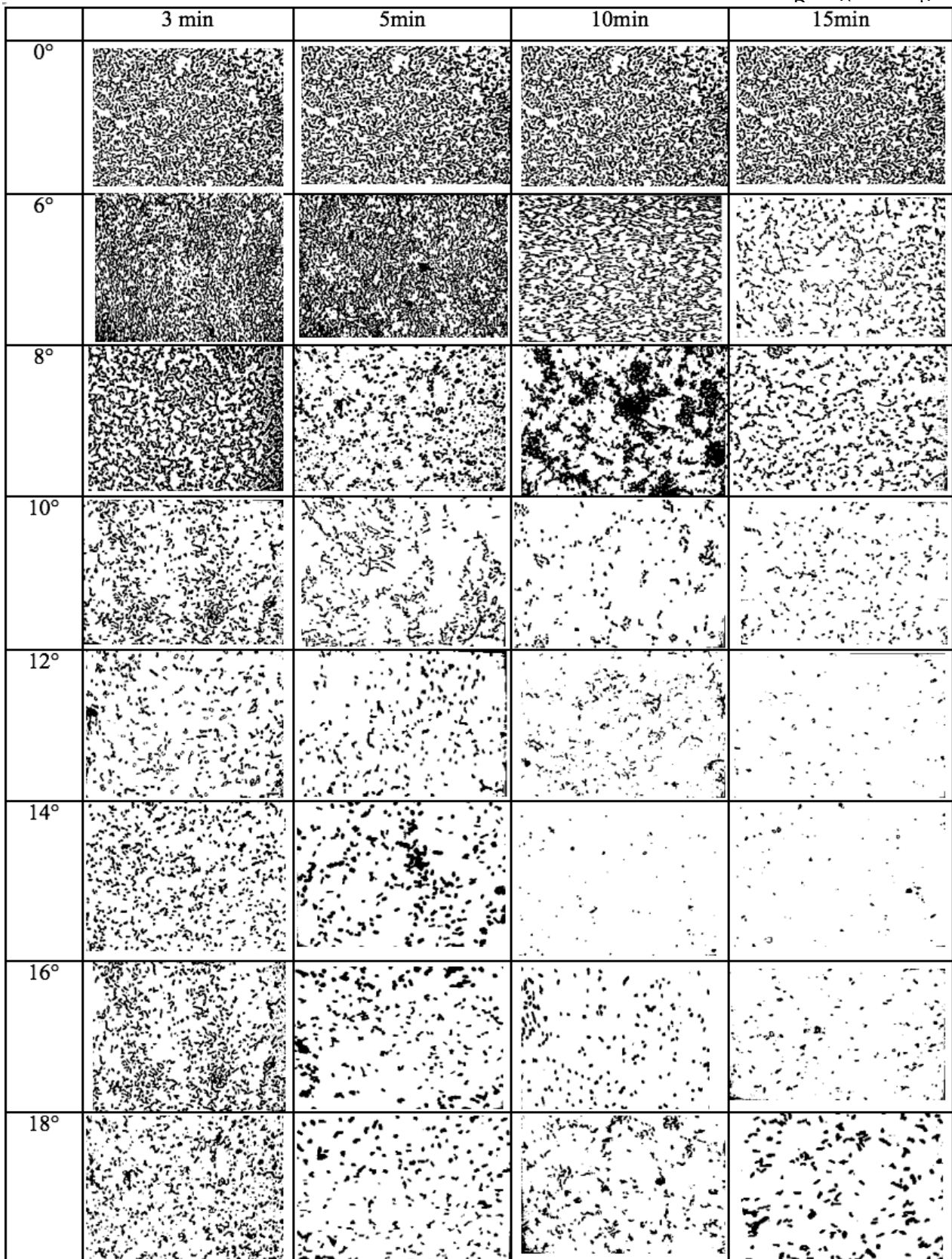


Figure 30 : Observations microscopiques des cellules de *S. kentucky* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400)

Tableau 23 : Pourcentage des cellules de *S. newport* et *S. kentucky* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min)

| Souche | Concentration (°Chl) Temps | 0° | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
|--------------------|----------------------------------|--|------|------|------|------|------|------|------|
| | | <div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: yellow; margin-right: 5px;"></div> Efficace (%d'adhésion<1) <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: orange; margin-right: 5px; margin-top: 5px;"></div> Moyennement Efficace (1≤%d'adhésion≤9) <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: red; margin-right: 5px; margin-top: 5px;"></div> Non efficace (%d'adhésion≥10) </div> | | | | | | | |
| <i>S. newport</i> | 3 min | 65,2 | 63,4 | 35,8 | 31,8 | 8,1 | 11,6 | 24 | 28 |
| | 5 min | 65,2 | 38,1 | 20,3 | 12,8 | 0,2 | 0,6 | 9,3 | 19,8 |
| | 10 min | 65,2 | 16,1 | 8,5 | 11 | 0,4 | 0,1 | 0,3 | 12,9 |
| | 15 min | 65,2 | 32,3 | 13,6 | 7,3 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 8,8 |
| <i>S. kentucky</i> | 3 min | 70 | 72 | 65 | 42 | 27,5 | 21,7 | 41,9 | 45 |
| | 5 min | 70 | 74,1 | 34,6 | 33 | 16,8 | 18,5 | 17,3 | 17,1 |
| | 10 min | 70 | 63,2 | 39,1 | 16,8 | 13,1 | 2,7 | 8,5 | 13,6 |
| | 15 min | 70 | 31,1 | 30,6 | 15,8 | 1,5 | 1,8 | 7,8 | 14,1 |

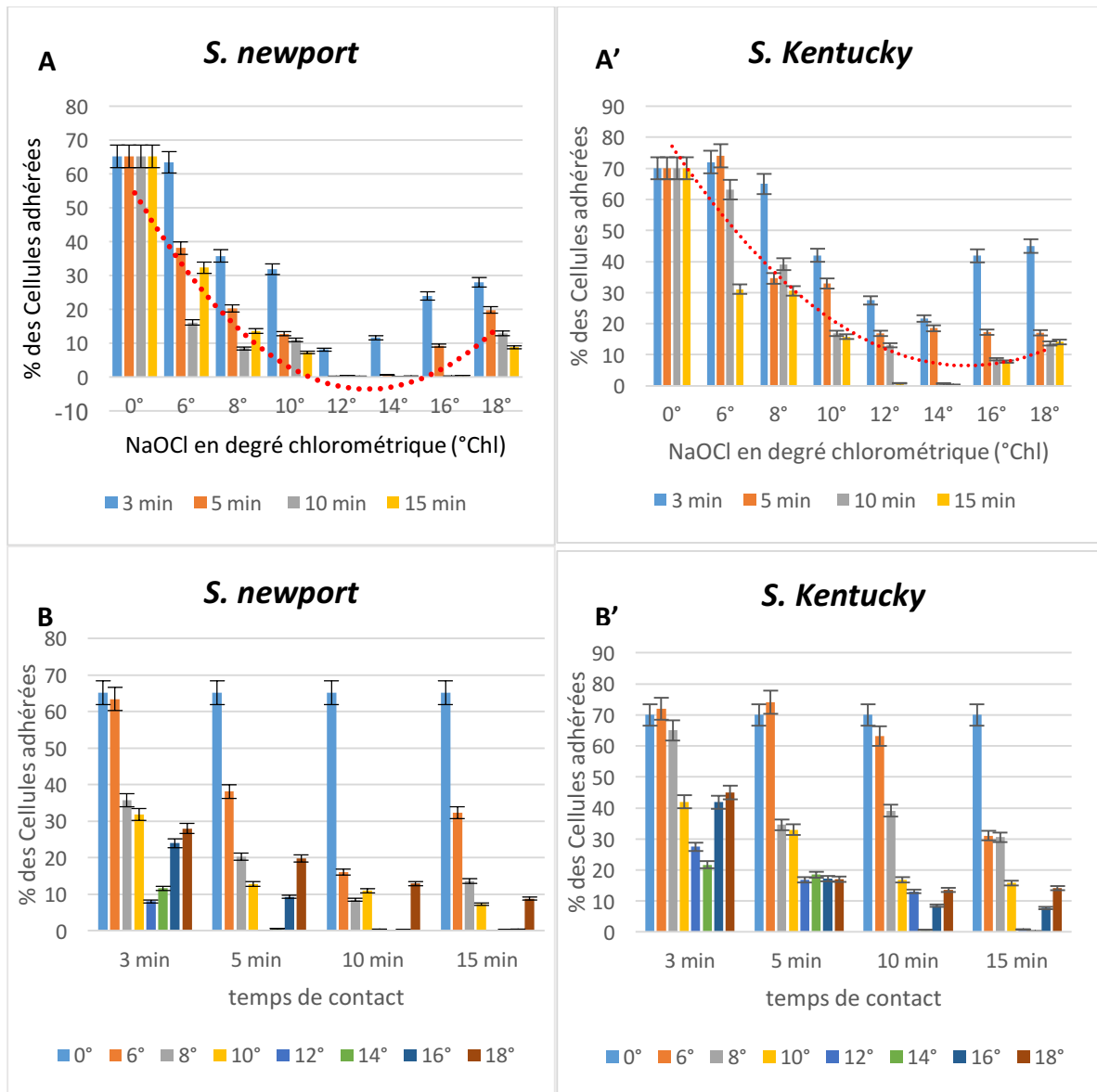


Figure 31 : Variation du pourcentage des cellules adhérentes de *S. newport* et *S. kentucky* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium au verre aux concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ;16° et 18° Chl) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min)

A et A' : Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction de la concentration de l'hypochlorite de sodium

B et B': Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction du temps de contact

L'analyse des résultats (figure 29, 30 et 31) montre que le pourcentage des cellules de *S. newport* adhérentes diminue considérablement en augmentant la concentration du désinfectant jusqu'à 16°Chl. A partir de cette valeur, nous assistons à une inefficacité au désinfectant d'hypochlorite de sodium notamment à la concentration élevée de 18°Chl. A partir de 5 min de traitement, les concentrations 12° et 14°Chl semblent être plus efficaces sur

l'adhésion microbienne des *S. newport* sur le verre comparativement aux autres concentrations étudiées.

Cette diminution du pourcentage des cellules *S. newport* adhérees est accentuée en prolongeant le temps de traitement.

Par ailleurs, les résultats indiquent que généralement *S. kentucky* résiste très fortement aux protocoles de désinfection même en appliquant de fortes concentrations (16° et 18°Chl) et en augmentant le temps de contact. Une diminution de l'adhésion est observée à des concentrations moyennement élevées (12° à 14°Chl) avec un temps d'application important (10 à 15min).

D'une façon générale, l'augmentation de la concentration de l'hypochlorite de sodium et le temps de traitement ne pourraient pas éliminer totalement les cellules adhérees de la souche *S. kentucky*.

La souche *S. kentucky* semble être plus résistante au protocole de désinfection par l'hypochlorite de sodium que la souche *S. newport* pour tous les temps de traitement.

🌀 Analyse de la régression

L'analyse statistique a montré que le modèle de régression donnant le meilleur coefficient de détermination R^2 est la régression polynomiale d'ordre 2. Les résultats de l'équation de la régression et le coefficient de détermination sont présentés dans le tableau 24.

Tableau 24: Analyse de la régression entre le pourcentage des cellules de *S. newport* et *S. kentucky* qui restent adhérees et les concentrations d'hypochlorite de sodium (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) par rapport à chaque temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min)

Régression Polynomiale d'ordre 2

| Souches | Temps | Equation | R ² |
|--------------------|--------|--------------------------------|----------------|
| <i>S. newport</i> | 3 min | $y = 2,36x^2 - 27,91x + 98,6$ | 87,82% |
| | 5 min | $y = 3,06x^2 - 33,97x + 95,3$ | 98,09% |
| | 10 min | $y = 2,85x^2 - 31,45x + 82,9$ | 85,09% |
| | 15 min | $y = 2,80x^2 - 32,47x + 90,4$ | 97,70% |
| <i>S. kentucky</i> | 3 min | $y = 1,87x^2 - 22,7x + 103,08$ | 73,50% |
| | 5 min | $y = 1,77x^2 - 24,8x + 102,24$ | 86,72% |
| | 10 min | $y = 2,3x^2 - 30,15x + 104,94$ | 95,39% |
| | 15 min | $y = 2,68x^2 - 31,5x + 94,5$ | 93,96% |

L'analyse de la régression (tableau 24), entre le pourcentage des cellules de *S. newport* et *S. kentucky* persistant sur le verre après traitement et les concentrations étudiées de l'hypochlorite de sodium, a montré une forte corrélation polynomiale d'ordre 2 ($y=ax^2+bx+c$) avec des valeurs élevées des coefficients de détermination R^2 pour tous les temps de

traitement (3min ; 5min ; 10min et 15min). Ceci indique que les faibles concentrations (6° ; 8° et 10°Chl) et les fortes concentrations (16° et 18°Chl) ont un effet moins important que les concentrations moyennes (12° et 14°Chl) sur l'adhésion microbienne des souches de *S. newport* et *S. kentucky*.

- Le pourcentage des cellules adhérees du *S. newport* diminue considérablement en augmentant la concentration du désinfectant appliqué jusqu'à 16°Chl. A partir de cette valeur, nous assistons à une inefficacité d'hypochlorite de sodium.
- A partir de 5 min de traitement, les concentrations 12° et 14°Chl semblent être plus efficaces sur l'adhésion microbienne des *S. newport* sur le verre comparativement aux autres concentrations étudiées.
- La souche *S. kentucky* résiste très fortement aux protocoles de désinfection.
- Une diminution de l'adhésion de *S. kentucky* est observée à des concentrations moyennement élevées (12° à 14°Chl) avec un temps d'application important (10 à 15min).
- La souche *S. kentucky* semble être plus résistante au protocole de désinfection par l'hypochlorite de sodium que la souche *S. newport* pour tous les temps de traitement.
- L'analyse de la régression entre le pourcentage des cellules adhérees des salmonelles et les concentrations étudiées a montré une corrélation polynomiale d'ordre 2 importante pour tous les temps de traitements.

II. Effet des protocoles de désinfection par le peroxyde d'hydrogène sur les bactéries adhérees

II.1. Effet du désinfectant peroxyde d'hydrogène sur les cellules adhérees des *E. coli*

Les résultats des observations des cellules des *E. coli* (*EM3* et *EM4*) qui restent adhérees au verre avant et après traitement par le désinfectant de peroxyde d'hydrogène en fonction des concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) sont présentés dans les figures 32, 33 et 34 et le tableau 25.

| | 3 min | 5min | 10min | 15min |
|-------|-------|------|-------|-------|
| 0% | | | | |
| 0,75% | | | | |
| 1,5% | | | | |
| 3% | | | | |

Figure 32 : Observations microscopiques des cellules de *E. coli* (EM3) qui restent adhérentes au verre en fonction des concentrations du peroxyde d'hydrogène appliquées (0,75% ; 1,5% ; 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min) – grossissement (x400)

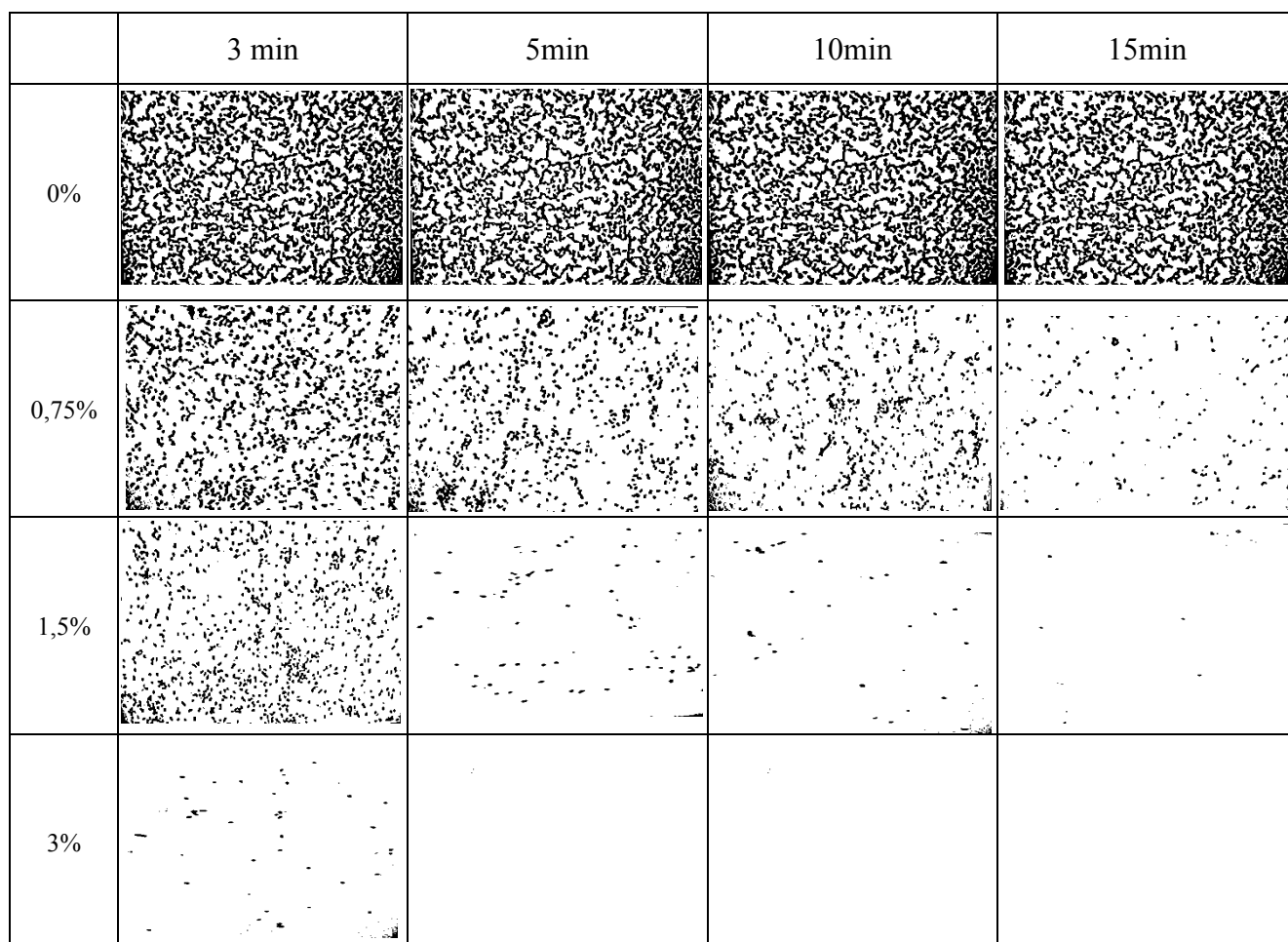


Figure 33 : Observations microscopiques des cellules de *E. coli* (EM4) qui restent adhérentes au verre en fonction des concentrations du peroxyde d'hydrogène appliquées (0,75% ; 1,5% et 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400)

Tableau 25 : Pourcentage des cellules de *E. coli* EM3 et EM4 qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations (0,75% ; 1,5% ; 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min ; 15min)

| Souche | Concentration (%) \ Temps | 0% | 0,75% | 1,5% | 3% |
|------------------------------|---------------------------|----|-------|------|-----|
| | | | | | |
| <i>E. coli</i> <i>EM3</i> | 3 min | 33 | 34 | 29,2 | 0,2 |
| | 5 min | 33 | 27,5 | 2,4 | 0 |
| | 10 min | 33 | 7,9 | 0,2 | 0 |
| | 15 min | 33 | 0,1 | 0 | 0 |
| <i>E. coli</i> <i>EM4</i> | 3 min | 62 | 40,7 | 36,3 | 6,6 |
| | 5 min | 62 | 34 | 7,8 | 0 |
| | 10 min | 62 | 24 | 5 | 0 |
| | 15 min | 62 | 9,8 | 0,1 | 0 |

Efficace (%d'adhésion<1)

Moyennement Efficace (1≤%d'adhésion≤9)

Non efficace (%d'adhésion≥10)

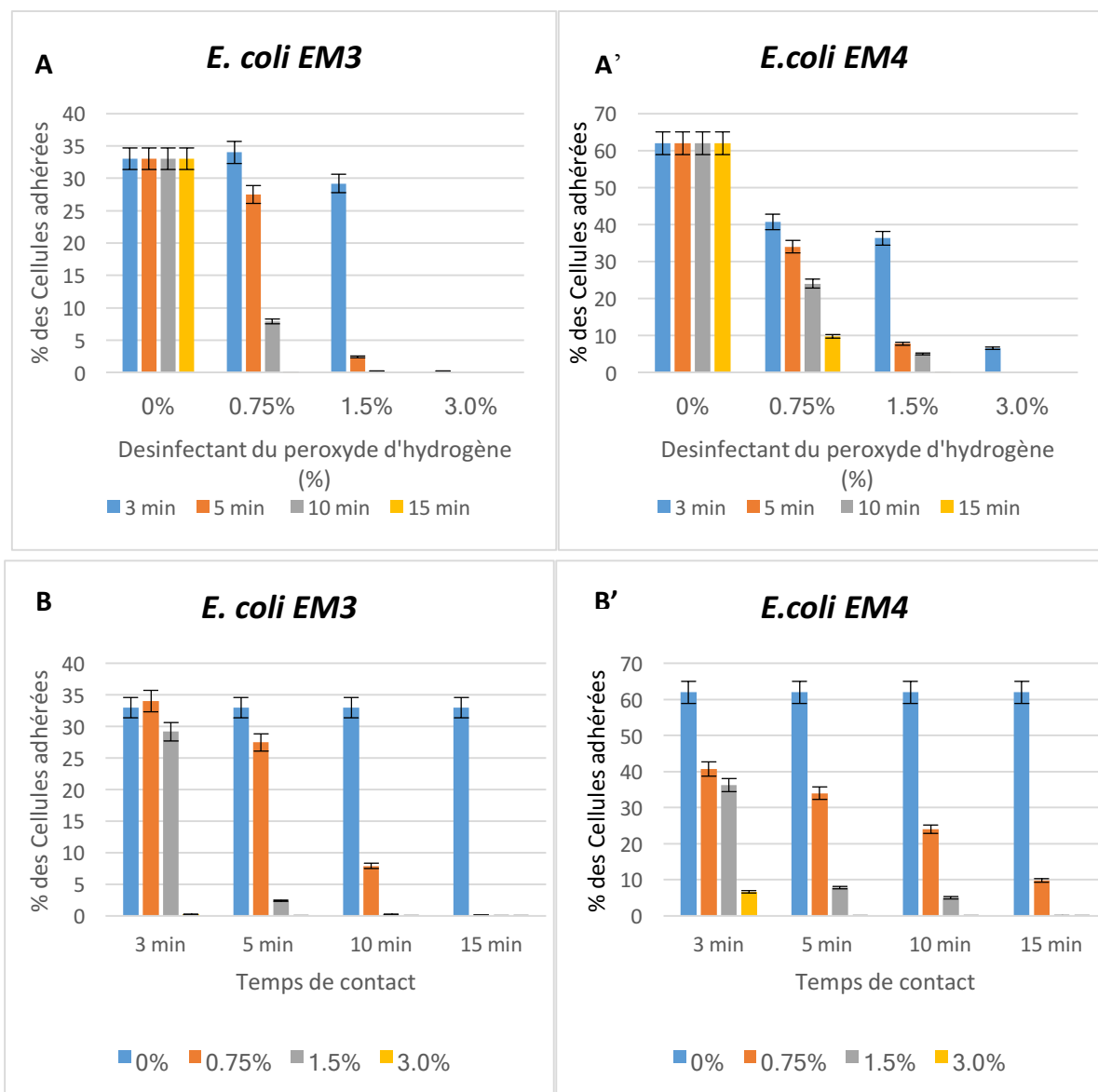


Figure 34 : Variation du pourcentage des cellules d'*E. coli* (EM3 et EM4) qui restent adhérentes au verre avant et après traitement à différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène (0,75% ; 1,5% et 3%) et aux temps d'application (3min, 5min, 10min et 15min)

A et A' : Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction de la concentration du peroxyde d'hydrogène

B et B' : Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction du temps de contact

L'analyse des résultats montre que le pourcentage des cellules des *E. coli* EM3 et EM4 qui restent adhérentes après traitement par le désinfectant de peroxyde d'hydrogène diminue considérablement en augmentant la concentration du désinfectant pour tous les temps d'application (figures 32, 33 et 34).

A la concentration 3%, nous notons une efficacité totale sur les cellules adhérees des *E. coli* EM3 pour tous les temps de contact, par contre, pour EM4 l'efficacité est observée à partir de 5 min de traitement.

Aussi, nous remarquons que, à 15 minutes de traitements, toutes les concentrations du peroxyde d'hydrogène sont efficaces sur l'adhésion d'*E. coli* EM3.

La désinfection par le peroxyde d'hydrogène semble être plus efficace sur l'adhésion microbienne d'*E. coli* EM3 que sur les cellules adhérees d'*E. coli* EM4.

- Le pourcentage des cellules des *E. coli* EM3 et EM4 qui restent adhérees après traitement par le peroxyde d'hydrogène diminue considérablement en augmentant la concentration du désinfectant pour tous les temps d'application.
- A la concentration 3%, nous notons une efficacité totale sur les cellules adhérees des *E. coli* EM3 pour tous les temps de contact, par contre, pour EM4, l'efficacité est observée à partir de 5 min de traitement.
- La concentration 1,5% réduit fortement le pourcentage des *E. coli* EM3 adhérees à partir de 5 min de traitement.
- La désinfection par le peroxyde d'hydrogène semble être plus efficace sur l'adhésion microbienne d'*E. coli* EM3 que sur les cellules adhérees d'*E. coli* EM4.

II.2. Effet du désinfectant peroxyde d'hydrogène sur les cellules adhérees des salmonelles

Les résultats des observations des cellules des *S. newport* et *S. kentucky* qui restent adhérees au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) sont présentés dans les figures 35, 36 et 37 et tableau 26.

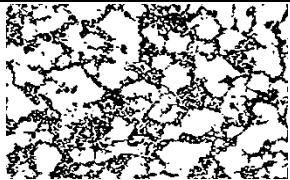
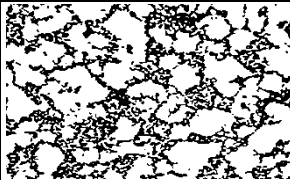
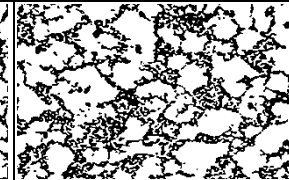
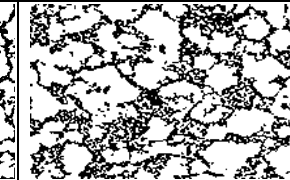
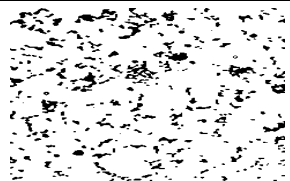



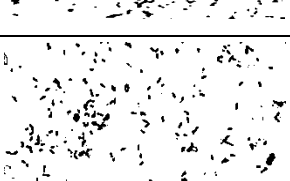
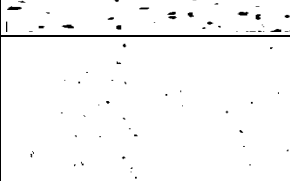
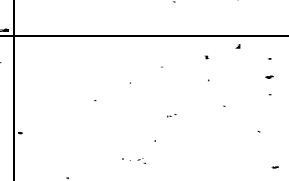

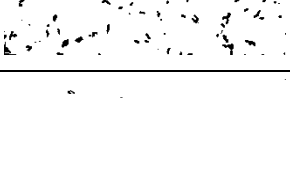


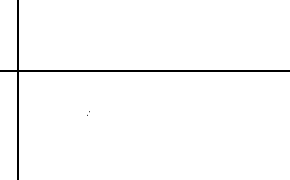
| | 3 min | 5min | 10min | 15min |
|-------|---|---|--|---|
| 0% |  |  |  |  |
| 0,75% |  |  |  |  |
| 1,5% |  |  |  |  |
| 3% |  |  |  |  |

Figure 35 : Observations microscopiques des cellules adhérentes de *S. newport* au verre en fonction des concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) du peroxyde d'hydrogène et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400)

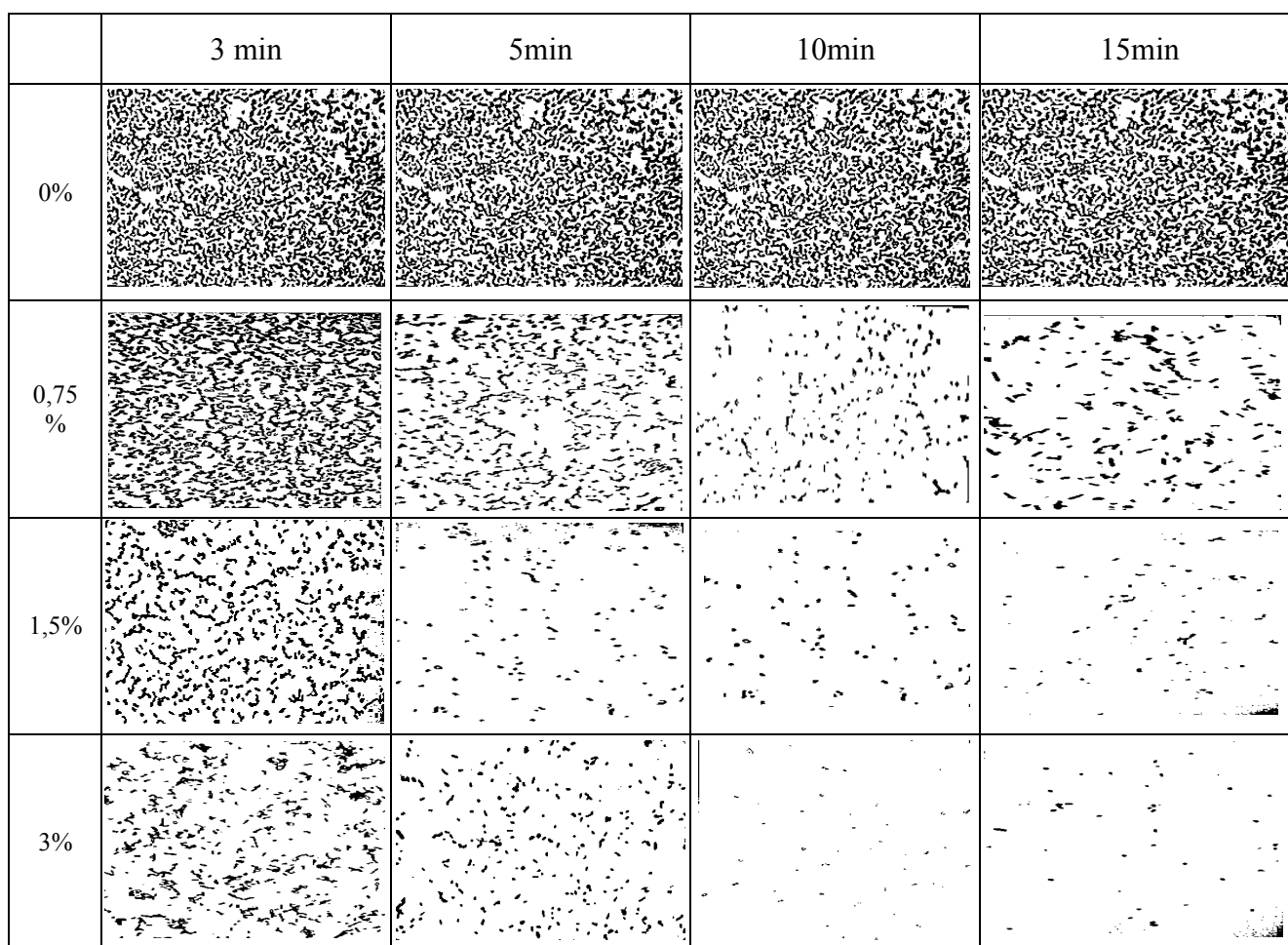


Figure 36 : Observations microscopiques des cellules de *S. kentucky* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) et aux temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min) – grossissement (x400)

Tableau 26 : Pourcentage des cellules de *S. newport* et *S. kentucky* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations (0,75%; 1,5% et 3%) et des temps d'application (3min ; 5min ; 10min et 15min).

| Souche | Concentration (%) Temps | 0% | 0,75% | 1,5% | 3% |
|--------------------|----------------------------|------|-------|------|------|
| | | | | | |
| <i>S. newport</i> | 3 min | 65,2 | 26 | 15 | 0,1 |
| | 5 min | 65,2 | 8,5 | 0,8 | 0 |
| | 10 min | 65,2 | 1,3 | 0,3 | 0 |
| | 15 min | 65,2 | 0,1 | 0 | 0 |
| <i>S. kentucky</i> | 3 min | 70 | 60 | 38 | 18,5 |
| | 5 min | 70 | 35 | 11 | 12 |
| | 10 min | 70 | 16,9 | 8,1 | 6,6 |
| | 15 min | 70 | 20 | 7,3 | 5,5 |

Efficace(%d'adhésion<1)
 Moyennement Efficace (1≤%d'adhésion≤9)
 Non efficace (%d'adhésion≥10)

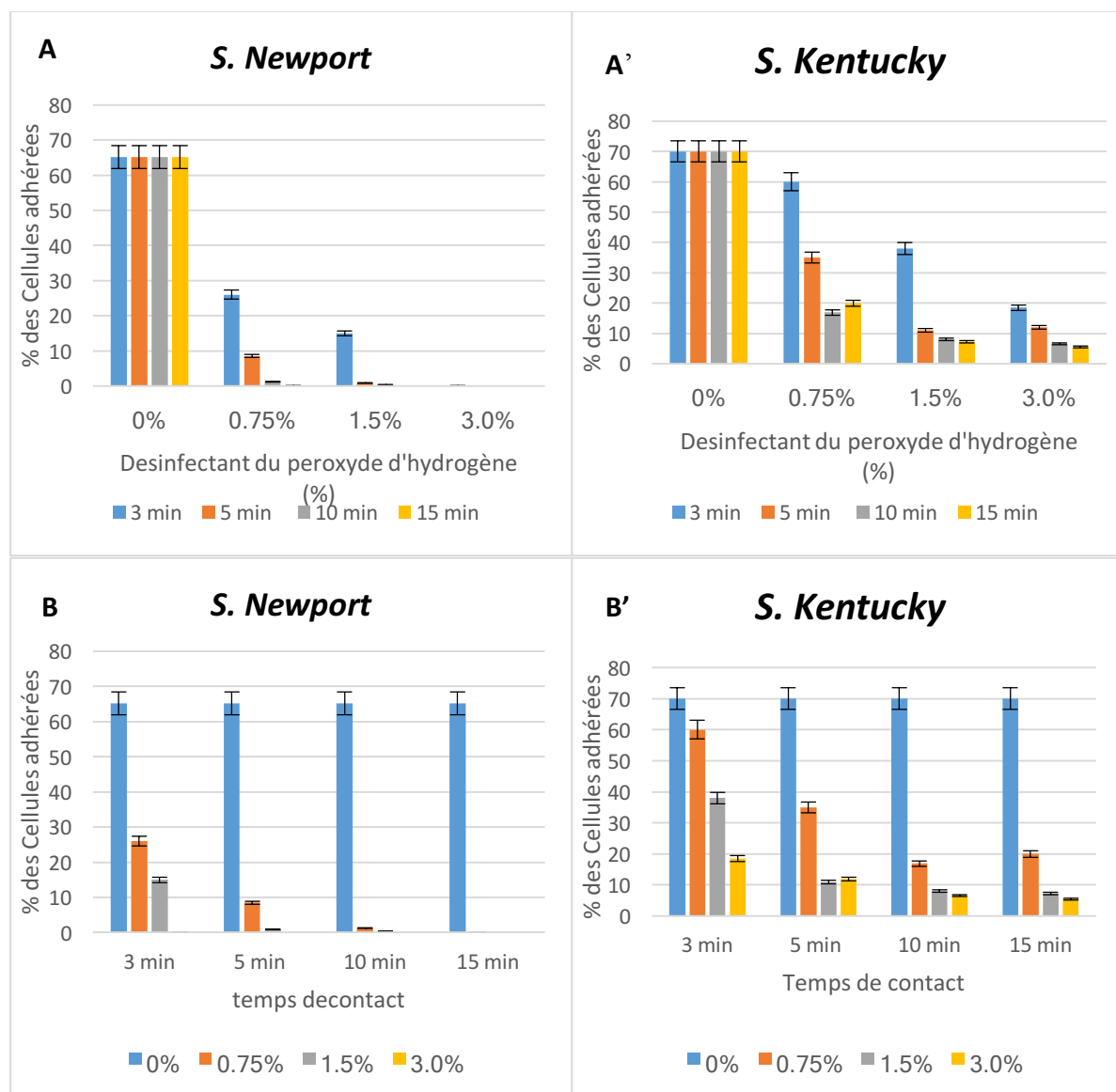


Figure 37 : Variation du pourcentage des cellules adhérentes de *S. Newport* et *S. Kentucky* qui restent adhérentes au verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations du désinfectant de peroxyde d'hydrogène et aux temps d'application variables

A : Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction de la concentration du peroxyde d'hydrogène

B : Effet du désinfectant sur le pourcentage des cellules adhérentes en fonction du temps de contact

L'analyse des résultats présentés dans les figures 35, 36 et 37 montre que le pourcentage des cellules adhérentes de *S. Newport* et *S. Kentucky* diminue après traitement par le peroxyde d'hydrogène en augmentant la concentration du désinfectant pour tous les temps d'application.

L'efficacité du désinfectant sur l'adhésion des souches microbiennes de *S. Newport* est très importante à partir de la concentration 1,5% et 5 minutes d'application.

L'application d'une concentration de 3% du désinfectant du peroxyde d'hydrogène est efficace pour l'élimination des cellules adhérentes des souches de *S. newport* pour tous les temps d'application (3min, 5min, 10min et 15min). Aussi, le traitement des cellules adhérentes de *S. newport* est efficace pour toutes les concentrations étudiées après 15 minutes de traitement.

Par ailleurs, le traitement des cellules adhérentes de *S. kentucky* sur le verre, en augmentant le temps de traitement et la concentration appliquée, diminue le pourcentage d'adhésion. Cependant, nous remarquons que cette souche résiste très fortement à tous les protocoles de désinfection et les traitements même à forte concentration (3%) et à un temps de contact important (15min) qui n'éliminent pas la totalité des cellules adhérentes.

- Le pourcentage des cellules de *S. newport* et *S. kentucky* qui restent adhérentes diminue après traitement par le peroxyde d'hydrogène en augmentant la concentration du désinfectant pour tous les temps d'application.
- L'efficacité du désinfectant sur l'adhésion de *S. newport* est très importante à partir de la concentration 1,5% et à 5 minutes d'application.
- L'application d'une concentration de 3% du peroxyde d'hydrogène est efficace pour l'élimination des cellules adhérentes de *S. newport* pour tous les temps d'application.
- Le traitement des cellules adhérentes de *S. newport* est efficace pour toutes les concentrations étudiées après 15 minutes de traitement.
- Le traitement des cellules adhérentes de *S. kentucky*, en augmentant le temps de traitement et la concentration appliquée, diminue le pourcentage d'adhésion.
- La souche *S. kentucky* résiste très fortement à tous les protocoles de désinfection.

Après désinfection par l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène, nous avons procédé par la suite à l'évaluation de la survie des cellules qui restent adhérentes au verre. Tous les tests de confirmation étaient positifs et montrent que ces cellules adhérentes sont bien vivantes (ex : figure 38). Ces cellules adhérentes peuvent donc constituer un risque permanent de biocontamination.

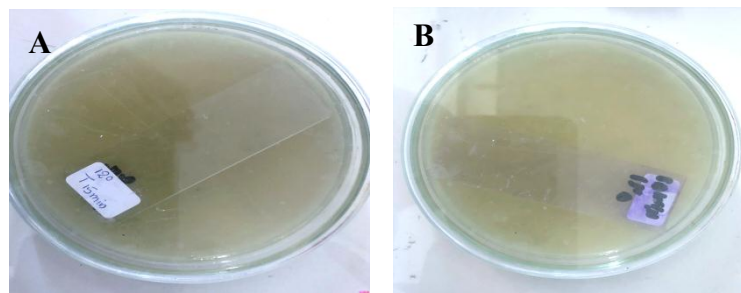


Figure 38 : Exemple de résultats du test de confirmation de la survie des bactéries adhérentes après désinfection

- A. Développement bactérien des cellules qui restent adhérentes après désinfection par l'hypochlorite de sodium.
- B. Développement bactérien des cellules qui restent adhérentes après désinfection par le peroxyde d'hydrogène.

En plus du risque hygiénique que peut engendrer ces cellules persistantes sur les surfaces, ces souches peuvent encore développer une résistance très accrue aux protocoles de désinfection en étant en contact avec ces produits. Aussi, (Spoering and Lewis, 2001) ont rapporté que les cellules persistantes aux surfaces, conduisent au développement de phénotypes résistants aux agents chimiques.

L'efficacité de la désinfection est liée à divers paramètres tels que la rugosité de surface (Jullien et al., 2003) ou la physico-chimie de l'équipement (Jullien et al., 2008), ainsi que les conditions et les procédures de nettoyage et désinfection. Bien que les propriétés physico-chimiques de la solution de nettoyage et de désinfection et leur concentration jouent un rôle majeur (Eide et al., 2003), les forces mécaniques, les durées et les températures de traitement jouent également un rôle important dans l'efficacité de ces agents chimiques contre les cellules adhérentes (Faille et al., 2000; Simoes et al., 2010). Une procédure de désinfection efficace consiste en l'application de désinfectants adaptés à l'installation et le procédé alimentaire, la concentration et le temps appliqués, l'action mécanique et la température d'utilisation (Wirtanen, 1995, Gould, 1994, Holah, 1992, Czechowski and Banner, 1992, FRANK and Koffi, 1990).

Dans cette étude, nous avons modifié la concentration des désinfectants et le temps de traitement afin d'évaluer le couple (concentration, temps) qui élimine la totalité ou la quasi-totalité des cellules adhérentes étudiées et nous avons fixé les autres paramètres (action mécanique non appliquée ; température d'utilisation : température ambiante, support d'étude inerte) afin de se focaliser sur l'évaluation de l'efficacité des produits de désinfection sur l'état des cellules microbiennes adhérentes en minimisant les variables dans l'étude.

Les traitements des supports contaminés suivant les protocoles de désinfections, assimilés à ceux réalisés en milieu industriel avec les désinfectants à base d'hypochlorite de sodium et du peroxyde d'hydrogène, ont généralement permis des diminutions des pourcentages des cellules adhérentes des souches des *S. newport*, *S. kentucky* et deux souches des *E. coli* pour les deux désinfectants étudiés.

A travers nos résultats de désinfection par l'hypochlorite de sodium, les réductions des pourcentages des cellules adhérentes après traitement montrent que le plus faible pourcentage d'adhésion bactérienne des salmonelles (*S. newport* ; *S. kentucky*) est celui observée à partir de 5 min de traitement en appliquant les concentrations 12° et 14°Chl et à partir de 10min de traitement pour 16° Chl. La comparaison de ces protocoles avec les souches d'*E. coli* (EM3 et EM4) montre que le pourcentage des cellules adhérentes diminue remarquablement avec un intervalle plus élargie allant de la concentration de 10° jusqu'à 18°Chl en appliquant un temps de contact de (5min, 10min et 15min) pour *E. coli* EM3 et 10min et 15min pour *E. coli* EM4.

La désinfection par le peroxyde d'hydrogène a montré que la concentration la plus efficace sur les cellules adhérentes d'*E. coli* EM3 et EM4 et de *S. newport* est celle observée en appliquant la concentration 3% du désinfectant pour tous les temps de traitement.

Nous pouvons constater clairement que l'efficacité de la désinfection par l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène est très dépendante non seulement du temps d'application et des concentrations de traitement, mais également de la nature des souches adhérentes. Ceci est en accord avec (Massicotte et al., 2011) qui ont rapporté que les microorganismes qu'on cherche à éliminer d'un environnement industriel ou médical ne réagissent pas tous de la même façon aux désinfectants qu'on utilise. Ces réactions sont fonction des caractéristiques physiologiques et morphologiques propres à chaque type de microorganisme.

Par ailleurs, Królasik et al. (2010) ont étudié l'efficacité de deux désinfectants à base du peroxyde d'hydrogène et d'acide peroxyacétique sur les biofilms des souches de *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas putida*, *Staphylococcus hominis* et *Listeria innocua*. L'agent désinfectant en concentration utilisable à 0,5% et pendant 10 minutes s'est révélé inefficace pour les biofilms. L'utilisation de l'agent à une concentration plus élevée (2% pendant 30 minutes) a entraîné une réduction du nombre de cellules d'environ 5 cycles logarithmiques uniquement dans le cas du micro-organisme, *M. luteus*. Pour les autres types : *L. innocua*, *P. putida*, *S. hominis*, ces conditions d'application ne semblent pas être efficace. Les résultats de ces expériences ont prouvé que les biofilms bactériens sont résistants aux désinfectants appliqués dans ses paramètres opérationnels. L'efficacité de la désinfection a été obtenue après une double augmentation de la concentration de l'agent.

Rossoni and Gaylarde (2000) ont évalué l'effet de 100 et 200 mg/kg de NaOCl sur des cultures bactériennes adhérent à de l'acier inoxydable, pendant une période de 10 min. Le nombre de cellules de *E. coli* adhérentes à l'acier inoxydable a été réduit de 5 à 3 log cfu cm⁻². Aussi, il n'y avait pas de différence significative entre les deux concentrations appliquées sur les cellules adhérentes.

Une étude a été menée par Peng et ces collaborateurs (2001) pour comparer la sensibilité des cellules planctoniques, des cellules adhérentes et des cellules en biofilm de *Bacillus cereus* à l'hypochlorite de sodium et SPARTEC, un composé d'ammonium quaternaire (CAQ). Les résultats montrent que les cellules de *B. cereus* dans un biofilm sont plus résistantes aux désinfectants chimiques suivies par les cellules adhérentes et en état planctonique. Lorsque les cellules de *B. cereus* étaient dans un état planctonique, 25 ppm d'hypochlorite ou 100 ppm de CAQ donnent une réduction de plus de 5 log UFC / ml dans les 15 s.

Pour élaborer une stratégie efficace d'élimination des biofilms des surfaces en contact avec les aliments, il est essentiel de connaître les propriétés adhésives et les facteurs de résistance des micro-organismes vivants dans diverses conditions environnementales. Il est bien connu que le rôle crucial dans la résistance des biofilms aux agents antimicrobiens est joué par la couche protectrice exopolysaccharidique formée par les cellules colonisatrices. Les recherches menées par (Szumigaj et al., 2008) et par (Czaczyk, 2004) ont montré qu'une

sécrétion excessive de molécules extracellulaires se produit lorsque l'accès aux nutriments est limité. Ces molécules extracellulaires, résultant de l'adsorption sur une surface solide, interviennent dans la cohésion et l'adhésion des micro-organismes. Les exopolysaccharides sont également le composant principal d'une couche de glycocalyx hautement hydraté qui permet d'immobiliser la microcolonie des cellules et de les protéger contre les effets négatifs des biocides et autres substances antimicrobiennes (Costerton et al., 1994).

Dans notre cas, parmi les souches testées, la souche de *S. kentucky* suivie de *E. coli* EM4 avaient une capacité de résistance importante aux désinfectants utilisés dans la quasi-totalité des conditions de concentration et de temps étudiés. Il convient donc de supposer que ces bactéries isolées des milieux industriels et adaptées aux conditions environnementales ont développé des mécanismes de résistance aux désinfectants.

De nombreux résultats sont disponibles sur la résistance des bactéries adhérentes aux procédures du nettoyage et désinfection (Bremer et al., 2006, Salustiano et al., 2010). Cette « résistance » est un terme fréquemment employé dont la définition fait l'objet de nombreuses discussions, en fonction des domaines d'études impliqués. Selon Cerf et al. (2010), une souche bactérienne est « résistante » à un désinfectant, si la relation temps-concentration nécessaire pour obtenir un certain nombre de réductions des souches est plus importante que celle évaluée dans une population de référence par la même méthode. Ces mêmes auteurs emploient le terme « tolérance » pour désigner la capacité d'un micro-organisme à croître à des concentrations normalement inhibitrices du désinfectant.

(Bourion and Cerf, 1996) ont montré que la résistance aux désinfectants différait de façon importante selon la nature de la surface, la concentration du désinfectant, la structure et l'âge du biofilm. Par ailleurs, des souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont devenues « tolérantes » au désinfectant d'ammonium quaternaire après expositions répétées à des concentrations croissantes du produit (Langsrud and Sundheim, 1997). Une étude menée par (Jacquet and Reynaud, 1994) ont montré que *Listeria monocytogenes* n'était guère plus résistante que d'autres espèces bactériennes à des concentrations bactéricides de désinfectant. Par ailleurs, des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) élevées ont été observées sur des souches de *Listeria monocytogenes* d'origine alimentaire (4 souches) et environnementale (3 souches) (Mereghetti et al., 2000). Cependant, il n'est guère évoqué si cette « tolérance » est acquise après exposition des souches aux concentrations préconisées par le fabricant. Selon (Lelieveld et al., 2003), la « tolérance » peut être liée à une mauvaise utilisation en pratique du désinfectant, c'est-à-dire un non-respect par l'utilisateur des conditions d'utilisation (concentration, température, pH, temps de contact...). Ceci a été observé chez les salmonelles qui sont devenues tolérantes au chlore utilisé à des concentrations inappropriées pour la désinfection de légumineuses (Mokgatla et al., 2002, Zhuang et al., 1995).

De nombreux auteurs ont observé que les bactéries organisées en biofilm étaient plus résistantes aux produits de désinfection que leurs homologues planctoniques (LeChevallier et al., 1987, FRANK and Koffi, 1990, Surdeau et al., 2006). Par exemple, (Ntsama-Essomba et

al., 1997) ont déterminé les coefficients d'inactivation par un biofilm d'*E. coli*, de plusieurs désinfectants de modes d'action différents. Le coefficient d'inactivation correspond au rapport de la concentration minimale bactéricide (CMB) du biofilm sur celle des cellules planctoniques. Ces auteurs constatent que l'activité du chlorure de benzalkonium, composé d'ammonium quaternaire, est très perturbée par la présence du biofilm (coefficient d'inactivation de 1000). L'activité bactéricide des autres composés (dont le tégol 2000, composé amphotère, l'acide peracétique et l'hypochlorite de sodium) est moins perturbée (coefficients d'inactivation respectivement de 40, 25 et 10). Pour expliquer ces différences de réactivité entre cellules planctoniques et cellules « fixées », différentes hypothèses sont avancées telles qu'un état physiologique spécifique des micro-organismes inclus dans un biofilm, associé ou non à un rôle de barrière diffusionnelle de cette structure vis-à-vis des molécules antimicrobiennes. Les outils de microscopie par fluorescence permettraient d'étudier le rôle de barrière de diffusion des biofilms.

Les travaux de (Guiot et al., 2002), portant sur les mesures de diffusion de particules inertes dans des biofilms constitués de bactéries modèles non pathogènes, ont permis de mettre en évidence l'implication (i) des interactions stériques (au-delà d'un certain diamètre, les particules ne diffusent plus librement dans le biofilm), (ii) des interactions électrostatiques (immobilisation « instantanée » des particules positivement chargées au contact de cellules microbiennes qui sont, elles, négativement chargées dans les conditions expérimentales testées) et (iii) de l'existence de structures locales dites « en champignon » (hétérogénéités locales du biofilm d'épaisseur et de densité plus importantes). Les variations de la physiologie bactérienne, pouvant être la cause de modifications de réponse aux biocides au sein des biofilms, sont engendrées par exemple par des phénomènes de communications inter-cellulaires appelées « quorum sensing » grâce auxquelles les bactéries évaluent leur densité de population, par des taux de croissance ralentis ou par des modifications physico-chimiques de la surface bactérienne (production de composés extra-cellulaires, morphologie, expression génétique...).

Aujourd'hui encore, les tests normalisés utilisés pour évaluer l'activité antimicrobienne des agents désinfectants restent basés sur l'utilisation de cellules microbiennes en suspension ou déposées et séchées (norme AFNOR NFT 72-300). Ces conditions sont en fait très éloignées de celles généralement rencontrées dans les milieux naturels où, comme nous l'avons dit, les cellules sont généralement adhérentes et souvent incluses dans une matrice polymérique. Ainsi, le manque de connaissances spécifiques des phénomènes de résistance bactérienne conduit parfois à une utilisation des désinfectants mal adaptés au problème posé (choix des principes actifs à sélectionner, dosage...).

CONCLUSION

Nous pouvons constater clairement que l'efficacité de la désinfection par l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène est très dépendante non seulement du temps d'application et des concentrations du traitement, mais également de l'état initiale de contamination des surfaces (pourcentage des cellules adhérentes) et de la nature des souches adhérentes.

A travers les résultats de désinfection par l'hypochlorite de sodium, nous pouvons voir clairement que les protocoles utilisés (12°C_{chl} ; 15min) et (14°C_{chl} ; 15min) sont, généralement, les plus efficaces sur toutes les souches étudiées. Par ailleurs, Les protocoles de désinfection par le peroxyde d'hydrogène (3% ; 5min), (3% ; 10min) et (3% ; 15min) sont les plus efficaces sur l'adhésion microbienne de toutes les souches étudiées.

De plus, la souche *S. kentucky* résiste très fortement à tous les protocoles de désinfection par les deux désinfectants.

De manière générale, le peroxyde d'hydrogène est plus efficace sur les cellules adhérentes des *E. coli* et des salmonelles étudiées comparativement avec l'hypochlorite de sodium.

Il est important de noter que les souches de salmonelles sont plus résistantes à la désinfection que les souches des *E. coli*. A travers ces résultats, nous mettons l'accent sur l'importance d'évaluer l'efficacité des protocoles de désinfection, lors des contrôles microbiologiques des surfaces, non seulement sur les souches d'*E. coli* considérées comme l'indicateur de contamination privilégié (Afssa, 2007), mais également sur les souches de salmonelle qui persistent sur les surfaces désinfectées.

Nous avons aussi démontré que les protocoles d'utilisation des désinfectants doivent tenir en considération des souches microbiennes cibles et de l'état non seulement libre des souches mais également adhérent aux surfaces. Les difficultés d'élimination des biofilms microbiologiques des surfaces solides sont principalement dues à la méconnaissance des caractéristiques déterminant la résistance des microorganismes en biofilm. Il en résulte que les désinfectants couramment disponibles ne conviennent pas à l'inactivation du biofilm en utilisant les mêmes conditions d'application quel que soit la nature des souches adhérentes.

CHAPITRE V : ETUDE DE L'EFFET DES TRAITEMENTS DE DESINFECTION SUR LES PROPRIETES DES SURFACES DU VERRE ET DES ACIERS INOXYDABLES 304, 304L et 316L

INTRODUCTION

Les surfaces en contact avec les aliments, en particulier les matériaux des équipements des industries alimentaires, sont désinfectés quotidiennement afin de préserver et de maintenir une haute qualité hygiénique des aliments. Le statut hygiénique est l'un des arguments décisifs dans le choix des matériaux destinés à être en contact avec les denrées alimentaires, avec leurs propriétés mécaniques et anticorrosion. Aussi, la stabilité vis-à-vis de divers produits chimiques pour les procédures de nettoyage et de désinfection est également fortement recommandée. Parmi ces matériaux, l'acier inoxydable, qui est largement utilisé pour la construction d'équipements de traitement des aliments, s'est déjà révélé extrêmement hygiénique (Holah and Thorpe, 1990). Les aciers inoxydables austénitiques contenant du chrome et du nickel, tels que l'AISI 304, 304L et 316L, sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et les équipements de restauration en raison de leur résistance élevée à la corrosion par les produits alimentaires et les détergents.

Les traitements de désinfection sont utilisés dans les environnements industriels et dans la restauration pour contrôler la bio-contamination des surfaces. Pour cela, de nombreuses recherches sont en cours afin d'étudier les mécanismes mis en jeu dans la résistance aux produits de désinfection. Les recherches concernant l'effet de l'utilisation de produits chimiques de désinfection sur les propriétés physicochimiques des surfaces et par conséquent, l'influence sur l'adhésion microbienne sont très limitées.

Dans ce contexte, l'objectif de la présente partie est donc d'étudier la stabilité des propriétés physicochimiques et la rugosité de surface du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L sous l'effet de 2 désinfectants à savoir l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène.

I. Effet des désinfectants sur les propriétés physico-chimiques des surfaces du verre et d'acier inoxydable 304, 304L et 316L

I.1. Traitements des surfaces par l'hypochlorite de sodium

Les caractéristiques de l'énergie libre de surface de chaque substrat du verre et des aciers inoxydables soumis aux protocoles de désinfection par différentes concentrations de l'hypochlorite de sodium pendant 15 min de traitement, sont déterminées. Les résultats sont présentés dans l'annexe 5 et les figures 39, 40, 41 et 42.

- Verre

L'analyse des résultats (tableau 27 et figure 39) a montré que la valeur de l'angle de contact avec l'eau (Θ_w) du verre augmente en fonction de la concentration du désinfectant jusqu'à 12° Chl. A partir de cette concentration, nous notons une diminution remarquable de la valeur de l'angle de contact.

Le traitement aux concentrations 8°, 10° et 12°Chl a changé significativement l'hydrophobicité en passant d'un caractère hydrophile à un caractère hydrophobe (soit une augmentation de 50% de la valeur initiale).

Par contre, le traitement du verre aux concentrations 6°, 14°, 16° et 18°Chl a maintenu le caractère hydrophile des surfaces du verre avec une diminution remarquable de ce caractère à la concentration 18°Chl (soit une diminution de 90% par rapport au témoin non traité).

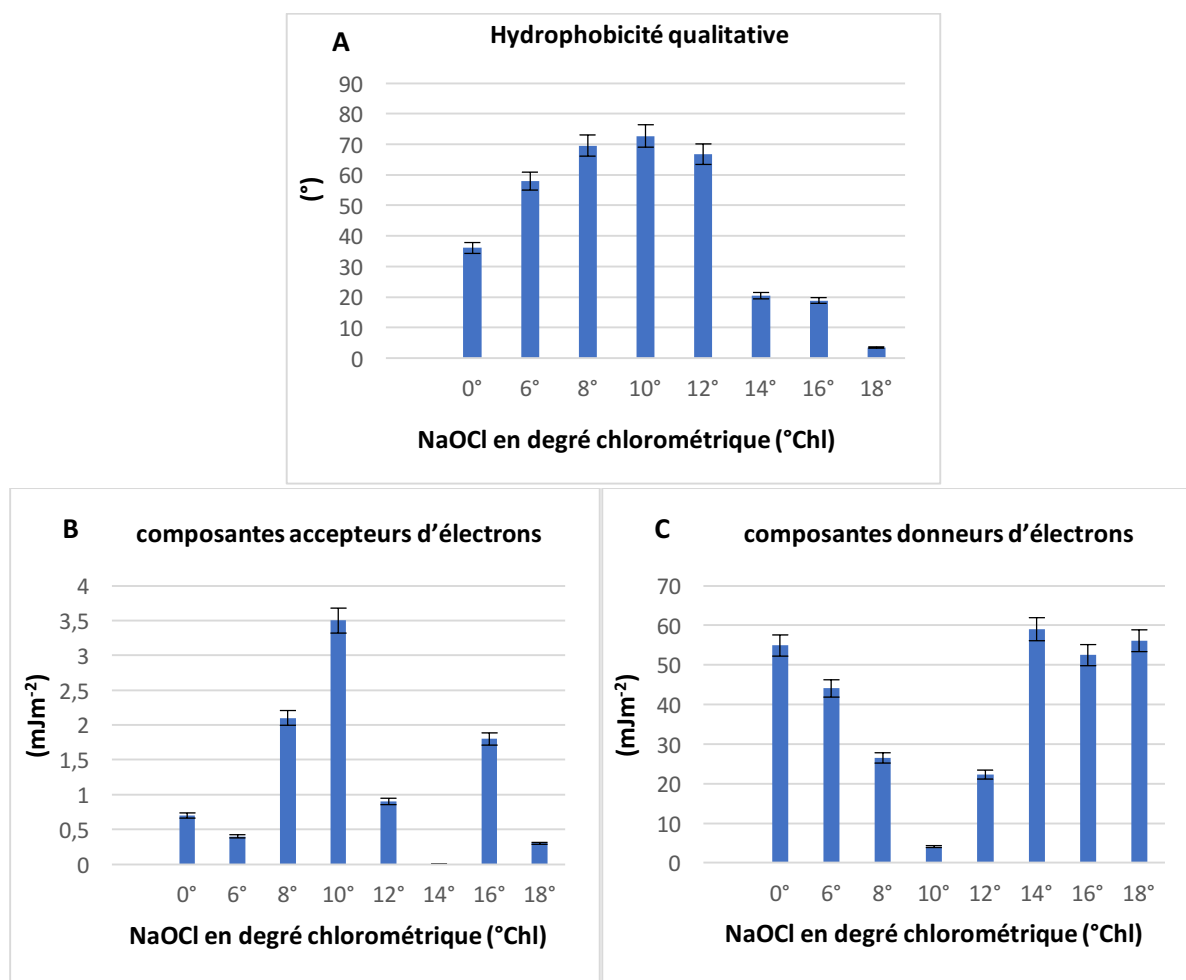


Figure 39 : Critères physicochimiques de la surface du verre avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité qualitative (Θ_w) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-).

Par ailleurs, l'analyse des caractères accepteur d'électrons (γ^+) a montré une grande variation en fonction du traitement : la surface du support du verre a été faiblement accepteur d'électrons (0,7 mJm⁻²), par contre, le traitement à des concentrations de 8°, 10° et 16° Chl a

nettement augmenté la valeur de ce caractère ($2,1 \text{ mJm}^{-2}$; $3,5 \text{ mJm}^{-2}$; $1,8 \text{ mJm}^{-2}$). Il est à noter que ce caractère a diminué remarquablement au traitement à 14°Chl (0 mJm^{-2}).

Nous avons également remarqué que la valeur du caractère donneur d'électrons (γ^-) a diminué considérablement en augmentant la concentration de 6° jusqu'à 12°Chl en passant de ($54,9 \text{ mJm}^{-2}$) à respectivement $44,1 \text{ mJm}^{-2}$; $26,5 \text{ mJm}^{-2}$; $4,1 \text{ mJm}^{-2}$ et $22,3 \text{ mJm}^{-2}$. En outre, les traitements à des valeurs élevées de 14° , 16° et 18°Chl n'ont pas modifié la valeur de ce caractère.

Il est à noter que le traitement à 10°Chl a fortement changé le caractère donneur d'électron avec une diminution de 92% par rapport au témoin.

- Acier inoxydable 304L

D'après les résultats présentés dans la figure 40, les supports 304L étaient hydrophiles ($27,7^\circ$) avant traitement par l'hypochlorite de sodium. Par ailleurs, les surfaces d'acier sont devenues hydrophobe après traitement avec 8° , 10° , 12° et 16°Chl d'hypochlorite de sodium avec respectivement $64,0^\circ$; $87,9^\circ$; $83,4^\circ$; $74,0^\circ$; $75,2^\circ$, alors que, les surfaces traitées avec 14° et 18°Chl sont restées hydrophiles ($15,5^\circ$; $21,7^\circ$).

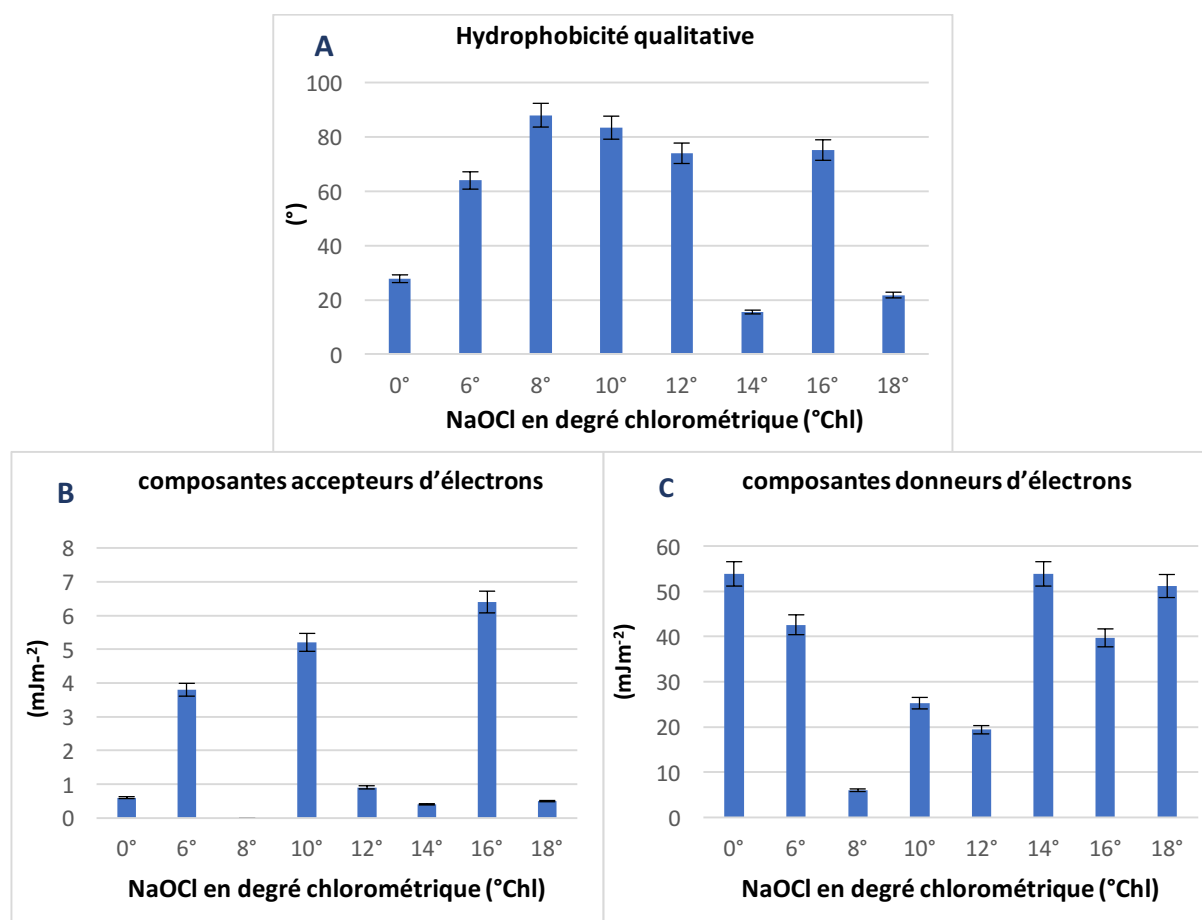


Figure 40 : Critères physicochimiques de la surface d'acier inoxydable 304L avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité

qualitative (Θ_w) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-).

Par ailleurs, les résultats indiquent que le caractère accepteur d'électrons du support d'acier 304L change largement avec ce type de désinfectant. En effet, les traitements par les concentrations 6 °, 10 ° et 16 ° affectent fortement les propriétés accepteurs d'électrons en augmentant d'une valeur initialement faible ($0,6 \text{ mJm}^{-2}$) à des valeurs élevées (respectivement $3,8 \text{ mJm}^{-2}$; $5,2 \text{ mJm}^{-2}$; $6,4 \text{ mJm}^{-2}$) (figure 40).

De plus, le caractère donneur d'électrons des supports traités est modifié par l'hypochlorite de sodium aux concentrations étudiées. Ce critère a fortement diminué après traitement par les concentrations 8°, 10° et 12°Chl en passant de $53,8 \text{ mJm}^{-2}$ à, respectivement, $6,0 \text{ mJm}^{-2}$; $25,2 \text{ mJm}^{-2}$ et $19,4 \text{ mJm}^{-2}$. Nous assistons à une diminution de 88% de la valeur du caractère donneur d'électron à 8°Chl par rapport au témoin.

- Acier inoxydable 304

Les résultats montrent que les supports 304 non traités ont un caractère hydrophobe ($80,2^\circ$). Par la suite, l'hydrophobicité de ces supports n'a pas changé significativement en augmentant la concentration de traitement. Cependant, les concentrations élevées de 16 ° et 18°Chl ont changé ce caractère hydrophobe à hydrophile avec, respectivement, des valeurs de $38,9^\circ$ et $6,4^\circ$.

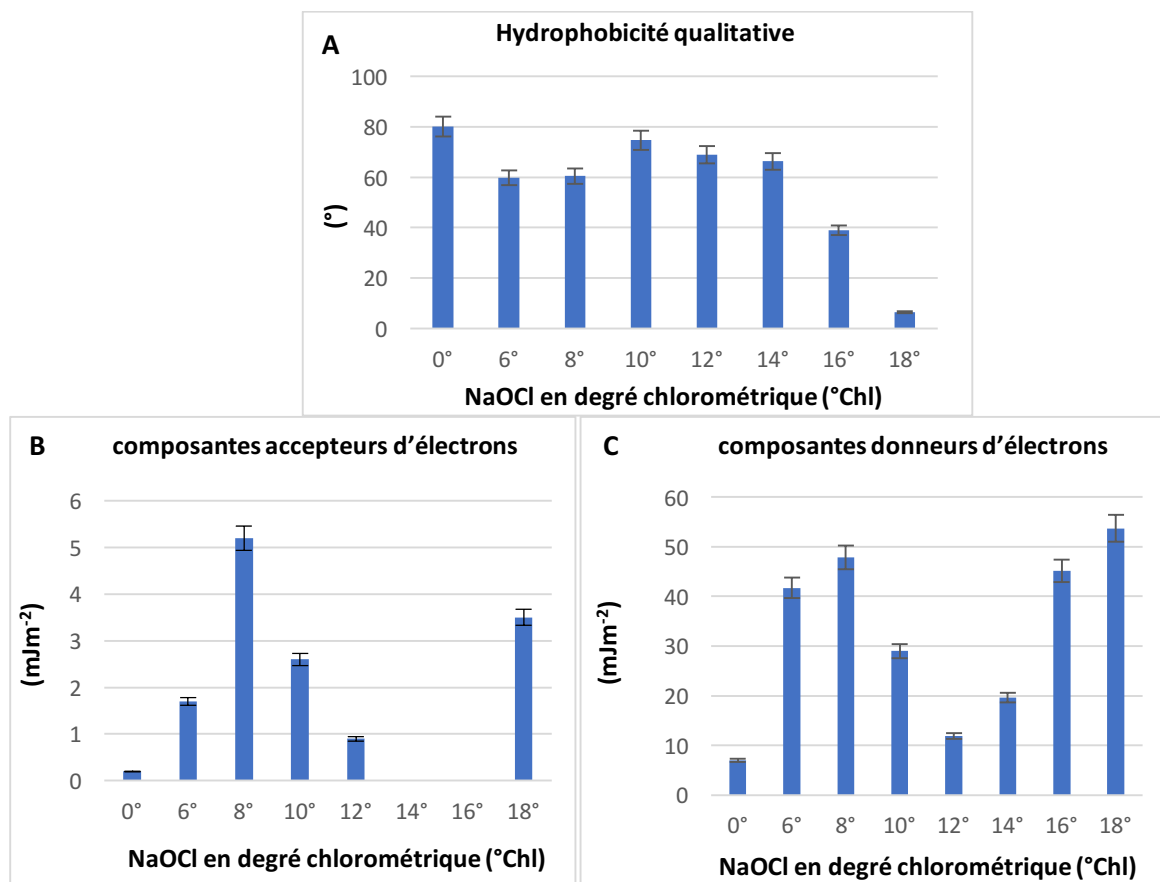


Figure 41 : Critères physicochimiques de la surface d'acier inoxydable 304 avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité

qualitative (Θ_w) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-).

Il est à noter que le traitement 18°Chl a fortement changé l'hydrophobicité de l'acier 304 en devenant très hydrophile (soit un pourcentage de diminution de 92%).

Nous pouvons voir clairement que le traitement par les concentrations 6°, 8°, 10° et 18°Chl affecte fortement les propriétés accepteur d'électrons en augmentant de valeur faible (0,2 mJm⁻²) à des valeurs élevées (1,7 mJm⁻² ; 5,2 mJm⁻² ; 2,6 mJm⁻² et 3,5 mJm⁻²). En outre, ces propriétés n'ont pas subi de modifications remarquables après le traitement par 12°, 14° et 16°Chl. Par ailleurs, le caractère donneur d'électrons a fortement augmenté après traitements, quelle que soit la concentration appliquée, en passant de 7,0 mJm⁻² à respectivement 41,7 mJm⁻² ; 47,9 mJm⁻² ; 29,0 mJm⁻² ; 11,9 mJm⁻² ; 19,6 mJm⁻² ; 45,1 mJm⁻² et 53,7 mJm⁻². Cette augmentation est maximale aux faibles et aux fortes concentrations appliquées

- Acier inoxydable 316L

Les résultats des traitements des supports de 316L ont montré que les supports avant traitement avaient un caractère hydrophobe (74,9 °). Ce caractère a persisté jusqu'au traitement à des concentrations, relativement, élevées de l'hypochlorite de sodium (12° et 14°Chl). Ce caractère devient très hydrophile aux concentrations très élevées de 16° et 18° Chl avec, respectivement, 6,0° et 3,6° (soit une diminution de 92% et 95% par rapport au témoin).

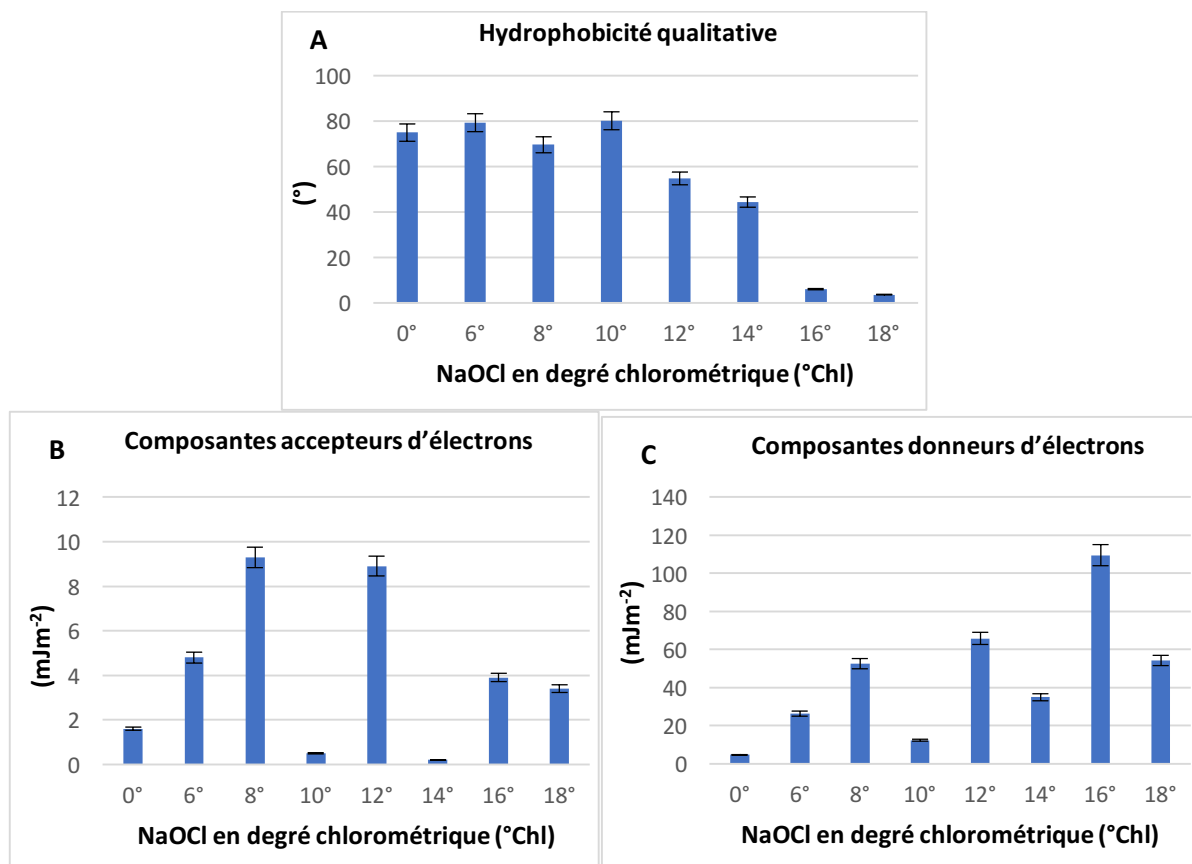


Figure 42 : Critères physicochimiques de la surface d'acier inoxydable 316L avant et après traitement par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium. A : Hydrophobicité

qualitative (Θ_w) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-).

Les concentrations 6°, 8 °, 12 °, 16° et 18°Chl affectent fortement les propriétés accepteurs d'électrons en augmentant d'une valeur faible de 1,6 mJm^{-2} à des valeurs élevées (4,8 mJm^{-2} ; 9,3 mJm^{-2} ; 8,9 mJm^{-2} ; 3,9 mJm^{-2} ; 3,4 mJm^{-2}). Cependant, ses propriétés diminuent significativement pour 10 ° et 14 °Chl (0,5 mJm^{-2} ; 0,2 mJm^{-2}).

Par ailleurs, le caractère donneur d'électrons a augmenté remarquablement avec tous les traitements, sauf pour 10°Chl, en passant d'une valeur initiale de 4,7 mJm^{-2} à 26,2 mJm^{-2} ; 52,5 mJm^{-2} ; 12,3 mJm^{-2} ; 65,8 mJm^{-2} ; 34,9 mJm^{-2} ; 109,5 mJm^{-2} et 54,1 mJm^{-2} , respectivement pour 6°, 8°, 10°, 12°, 14, 16° et 18°Chl.

Il est important de noter que le traitement à 16°Chl a augmenté très nettement la valeur du caractère donneur d'électrons (augmentation de 95% par rapport à la valeur initiale).

Afin de résumer toutes ces modifications, nous avons dressé un tableau récapitulatif des caractères physicochimiques des surfaces du verre et des aciers inoxydables traitées par l'hypochlorite de sodium (tableau 27).

Tableau 27 : Tableau récapitulatif de la variation des propriétés physicochimiques (hydrophobicité qualitative (Θ_w) ; composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; composantes donneurs d'électrons (γ^-) suite aux traitements par l'hypochlorite de sodium

| Critères Physico-chimiques | Supports | Concentrations en hypochlorite de sodium (en °ChI) | | | | | | | |
|----------------------------|------------|--|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
| Θ_w | Verre | hydrophile | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophile | hydrophile | Très hydrophile |
| | Acier 304L | hydrophile | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophile | hydrophobe | hydrophile |
| | Acier 304 | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophile | hydrophile |
| | Acier 316L | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophobe | hydrophile | hydrophile | Très hydrophile | Très hydrophile |
| γ^- | Verre | Très fort | Très fort | Fort | Faible | Fort | Très fort | Très fort | Très fort |
| | Acier 304L | Très fort | Très fort | Très faible | Faible | Faible | Très fort | Très fort | Très fort |
| | Acier 304 | Faible | Très fort | Très fort | Très fort | Fort | Fort | Très fort | Très fort |
| | Acier 316L | Faible | Fort | Fort | Faible | Fort | Fort | Très fort | Fort |
| γ^+ | Verre | Faible | Faible | Fort | Fort | Faible | Faible | Fort | Faible |
| | Acier 304L | Faible | Très fort | Faible | Très fort | Faible | Faible | Très fort | Faible |
| | Acier 304 | Faible | Fort | Très fort | Fort | Fort | Faible | Faible | Fort |
| | Acier 316L | Faible | Fort | Fort | Très faible | Fort | Très faible | Fort | Fort |

Hydrophile ;
 Hydrophobe ;
 Faiblement donneur d'électron ;
 Fortement donneur d'électron ;
 Faiblement accepteur ;
 Fortement accepteur

- Avant tout traitement, les surfaces des aciers inoxydables 304, 316L étaient hydrophobes tandis que l'acier inoxydable 304L et le verre étaient hydrophiles.
- Après traitement par l'hypochlorite de sodium, les supports 316L ont une grande stabilité dans leur caractère hydrophobe jusqu'au traitement à concentration dépassant 12 ° Chl.
- L'hydrophobicité de 304 était plus stable jusqu'au traitement avec 16 ° Chl d'hypochlorite de sodium.
- L'hydrophobicité de surface de l'acier 304L et du verre a remarquablement changé d'un caractère hydrophile à un caractère hydrophobe suite aux traitements entre 6° et 12°Chl.
- Les propriétés donneur et accepteur d'électrons ont été largement affectées par les différents traitements pour tous les aciers inoxydables.

I.2. Traitements des surfaces par le peroxyde d'hydrogène

Les caractéristiques de l'énergie libre de surface de chaque substrat du verre et des aciers inoxydables soumis à divers traitements par le peroxyde d'hydrogène pendant 15 minutes, sont présentés dans les figures 43 et 44.

- Verre

D'après les résultats du tableau 27 et la figure 43, les supports témoins (non traités) ont un caractère hydrophile ($\Theta_w = 36,1^\circ$). Après traitement, nous constatons, qu'en augmentant la concentration du peroxyde d'hydrogène (0,75% ; 1,5% ; 3 %), la valeur de l'angle de contact de l'eau augmente significativement pour l'ensemble des traitements de désinfection à respectivement $45,6 \text{ mJm}^{-2}$; $52,0 \text{ mJm}^{-2}$ et $63,2 \text{ mJm}^{-2}$, tout en restant relativement hydrophile.

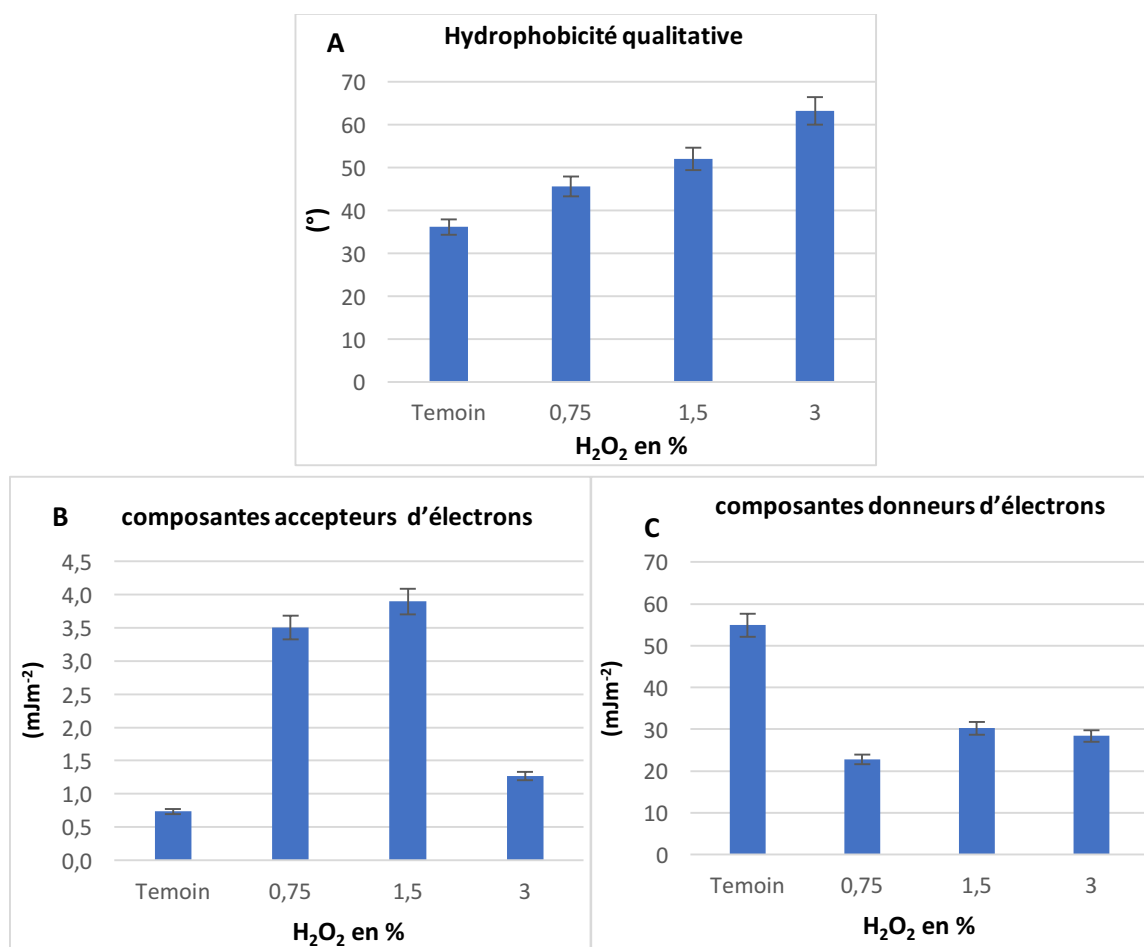


Figure 43 : Critères physicochimiques du verre avant et après traitement par différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène. A : Hydrophobicité qualitative (Θ_w) ; B : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C : composantes donneurs d'électrons (γ^-).

De même, les résultats des propriétés accepteurs d'électrons ont très remarquablement augmenté par rapport au témoin suite au traitement par le peroxyde d'hydrogène à des concentrations de 0,75% et 1,5% en passant de 0,73 mJm⁻² à des valeurs de, respectivement, 3,51 mJm⁻² et 3,90 mJm⁻².

Par ailleurs, le caractère donneur d'électron a largement diminué à environs 50% de sa valeur initiale avec les traitements par toutes les concentrations du peroxyde d'hydrogène en passant de 54,9 mJm⁻² à 22,77 mJm⁻²; 30,22 mJm⁻² et 28,4 mJm⁻².

- Aciers inoxydables (304 ; 304L ; 316L)

Les résultats de l'acier 304 montrent qu'en augmentant les concentrations du peroxyde d'hydrogène, l'hydrophobicité diminue fortement en passant d'un caractère hydrophobe (80,2°) à un caractère hydrophile avec respectivement 8,6° ; 34,7° et 3,3° (soit une diminution de plus que 90% pour les concentrations 0,75% et 3%).

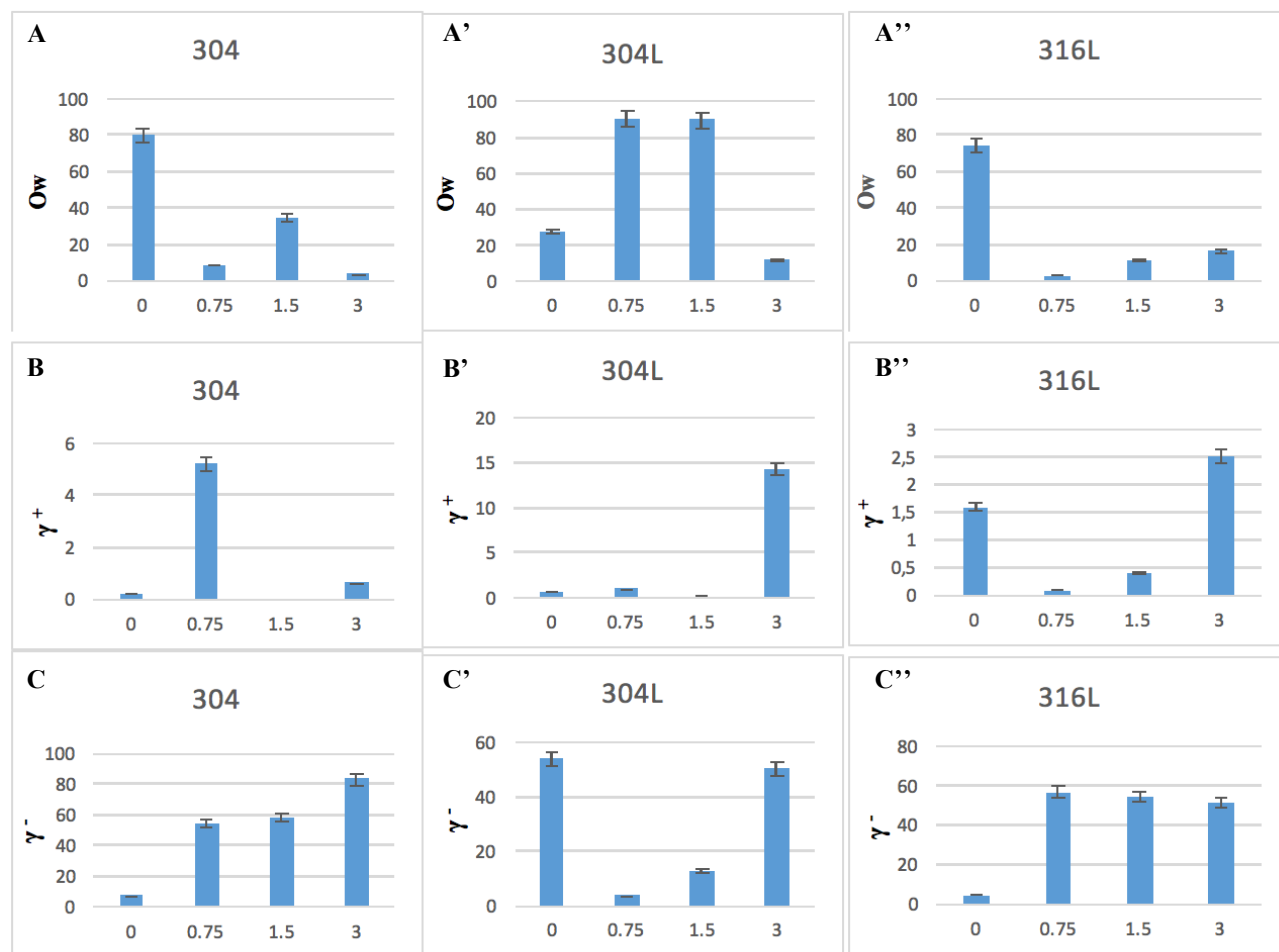


Figure 44 : Critères physicochimiques des aciers inoxydables 304, 304L and 316L avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%). A, A' et A'' : Hydrophobicité qualitative (Θ_w) ; B, B' et B'' : composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; C, C' et C'' : composantes donneurs d'électrons (γ^-).

De même, en augmentant la concentration du peroxyde d'hydrogène (0,75% ; 1,5% et 3%), l'acier inoxydable 316L a passé d'un caractère hydrophobe ($74,9^\circ$) à un caractère très hydrophile avec respectivement $3,1^\circ$; $11,4^\circ$; $16,3^\circ$ (soit une diminution de plus que 78% de la valeur initiale).

Par contre, les traitements de l'acier 304L avec les concentrations 0,75% et 1,5% a changé son caractère hydrophile ($27,7^\circ$) en un caractère très hydrophobe avec, respectivement, $90,3^\circ$ et $89,7^\circ$. Cependant, le traitement à la concentration de 3% a généralement maintenu son caractère hydrophile.

Concernant le caractère accepteur d'électrons, le traitement par une faible concentration (0,75%), a fortement augmenté ce paramètre pour l'acier 304 en passant d'une valeur de $0,2 \text{ mJm}^{-2}$ à $5,2 \text{ mJm}^{-2}$. Par contre, les concentrations de 1,5% et 3% ont faiblement affecté ce caractère.

Pour le support 304L, une forte concentration de 3% a fortement augmenté le caractère accepteur d'électrons en variant d'une valeur de $0,6 \text{ mJm}^{-2}$ à $14,3 \text{ mJm}^{-2}$. Les autres traitements n'ont pas d'effet significatif sur ce support.

En plus, le support 316L a été affecté par les concentrations 0,75% et 1,5% en diminuant significativement d'une valeur initiale de $1,6 \text{ mJm}^{-2}$ à $0,1 \text{ mJm}^{-2}$ et $0,6 \text{ mJm}^{-2}$. Par contre, la concentration 3% a fait augmenter le caractère accepteur d'électrons jusqu'à une valeur de $2,5 \text{ mJm}^{-2}$.

De plus, le caractère donneur d'électrons des supports 304 a fortement augmenté avec l'augmentation de la concentration du peroxyde d'hydrogène en passant de $7,0 \text{ mJm}^{-2}$ jusqu'à des valeurs de $54,2 \text{ mJm}^{-2}$; $58,5 \text{ mJm}^{-2}$ et $83,3 \text{ mJm}^{-2}$.

De même, pour l'acier 316L, ce caractère a très remarquablement augmenté suite aux traitements en passant d'une valeur initiale de $4,67 \text{ mJm}^{-2}$ à respectivement $56,80 \text{ mJm}^{-2}$; $54,68 \text{ mJm}^{-2}$ et $51,02 \text{ mJm}^{-2}$.

Par ailleurs, pour l'acier 304L, ce caractère a très fortement diminué après traitement par les concentrations de 0,75% et 1,5% en passant d'une valeur de $53,82 \text{ mJm}^{-2}$ à, respectivement, $3,48 \text{ mJm}^{-2}$ et $12,72 \text{ mJm}^{-2}$, alors que le traitement par une concentration de 3% n'a pas affecté ce caractère ($51,02 \text{ mJm}^{-2}$).

Afin de résumer toutes les modifications que nous avons rapportées sur nos résultats, nous avons adressé un tableau récapitulatif des caractères physicochimiques des surfaces du verre et des aciers inoxydables traitées par le peroxyde d'hydrogène (tableau 29).

Tableau 28 : Tableau récapitulatif de la variation des propriétés physicochimiques (hydrophobicité qualitative (Θ_w) ; composantes accepteurs d'électrons (γ^+) ; composantes donneurs d'électrons (γ^-)) suite aux traitements par le peroxyde d'hydrogène des différents supports.

| Critères Physico-chimiques | Supports | Concentrations du peroxyde d'hydrogène (en %) | | | |
|----------------------------|------------|---|-----------------|-------------|-----------------|
| | | Témoin | 0,75% | 1,5% | 3% |
| Θ_w | Verre | hydrophile | hydrophile | hydrophile | hydrophobe |
| | Acier 304L | hydrophile | hydrophobe | hydrophobe | hydrophile |
| | Acier 304 | hydrophobe | Très hydrophile | hydrophile | Très hydrophile |
| | Acier 316L | hydrophobe | hydrophile | hydrophile | hydrophile |
| γ^- | Verre | Fort | Faible | Faible | Faible |
| | Acier 304L | Fort | Très Faible | Très Faible | Fort |
| | Acier 304 | Faible | Très fort | Très fort | Très fort |
| | Acier 316L | Faible | Très fort | Très fort | Très fort |
| γ^+ | Verre | Faible | Fort | Fort | Faible |
| | Acier 304L | Faible | Faible | Faible | Très fort |
| | Acier 304 | Faible | Très Fort | Faible | Faible |
| | Acier 316L | Fort | Faible | Faible | Très fort |

Hydrophile ;
 Hydrophobe ;
 Faiblement donneur d'électrons ;
 Fortement donneur d'électrons ;
 Faiblement accepteur d'électrons ;
 Fortement accepteur d'électrons.

- L'augmentation de la concentration du peroxyde d'hydrogène a fait augmenter progressivement l'hydrophobicité du verre.
- L'augmentation de la concentration du peroxyde d'hydrogène engendre une forte diminution de l'hydrophobicité des aciers inoxydable 304 et 316L.
- L'augmentation de la concentration du peroxyde d'hydrogène a fait fortement augmenter le caractère donneur d'électrons des aciers 304 et 316L.
- Pour l'acier 304L, le caractère donneur d'électrons a très fortement diminué après traitement par les concentrations de 0,75% et 1,5%.
- Pour le verre, ce caractère a diminué à environs 50% de sa valeur initiale avec les traitements par toutes les concentrations du peroxyde d'hydrogène.

De nombreuses variations des énergies superficielles libres ont été rapportées par divers traitements de surface, notamment le contact alimentaire (Barnes et al., 1999, Hamadi et al., 2014), les traitements par des extraits naturels (Sadiki et al., 2014, El Abed et al., 2011, Azelmad, 2018) et les procédures de nettoyage et désinfection (Boulangé-Petermann et al., 1993, Boulangé-Petermann et al., 1997, Flint et al., 2000).

Boulangé-Petermann (1996) a démontré que tout contact entre les détergents et des aciers inoxydables altérerait les caractéristiques énergétiques des matériaux et, par conséquent, leurs propriétés hygiéniques. Aussi, Sinde and Carballo (2000) ont rapporté que le lavage de l'acier inoxydable 304 avec un désinfectant à base de composés d'ammonium quaternaire ou à base de diéthylènetriamine diminuait les valeurs de l'angle de contact avec l'eau. En outre, (Jullien et al., 2008) ont associé le statut hygiénique des aciers inoxydables (430, 304 et 316) à une valeur élevée de γ^+ ($> 1,2 \text{ mJm}^{-2}$).

Kang and Lee (2007) ont rapporté que la surface inoxydable AISI de type 316L devient très hydrophile, avec des valeurs allant de $\theta_w = 10$ à 54° par rapport au non traité ($\theta_w = 78,8^\circ$), après des traitements par des agents acides exposant les groupes hydroxyle à la surface.

Limités sont les travaux qui ont évoqué l'effet de l'utilisation des désinfectants sur les propriétés physicochimiques des surfaces. Par contre, plusieurs travaux se sont focalisés sur l'étude des modifications des surfaces en contact des aliments ou par les traitements des surfaces par des extraits naturels. Dans ce sens, nous citons :

Sadiki et al. (2014), qui ont rapporté que l'extrait aqueux de *Salvia officinalis* testé à différentes concentrations modifie les propriétés de surface de l'acier inoxydable 304. En effet, ce dernier est devenu hydrophile avec des valeurs d'angles de contact avec l'eau allant de $\theta_w = 47$ à $14,1$ et plus donneurs d'électrons avec des valeurs comprises entre $\gamma^- = 21,1^\circ$ et $\gamma^- = 53,8 \text{ mJ/m}^2$ par rapport à la valeur non traitée ($\theta_w = 63,7^\circ$ et $\gamma^- = 18,7 \text{ mJ/m}^2$). Aussi, Azelmat (2018) a rapporté que le traitement des surfaces des aciers inoxydables 304 par les extraits des plantes a complètement changé l'hydrophobicité du caractère hydrophobe au caractère hydrophile. En outre, El abed et al., 2011, qui ont montré que le traitement de la surface de bois de cèdre par le carvone, carvacrol, le thymol ou le cinnémaldéhyde a modifié ces propriétés physico-chimiques.

Par ailleurs, Hamadi et al. (2014) ont rapporté l'augmentation de l'hydrophobicité des aciers inoxydables 304 avec des traitements de surfaces par différents types de lait. Aussi, le traitement de l'acier inoxydable 304 avec différents types de lait diminuait son caractère donneur d'électrons à des valeurs comprises entre $\gamma^- = 13,1 \text{ mJm}^{-2}$ et 2 mJm^{-2} en comparant au support non-traité ($\gamma^- = 32,5 \text{ mJm}^{-2}$).

II. Effet des traitements sur la rugosité de surface du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L

En plus de l'étude des modifications des caractères de l'hydrophobicité et des propriétés donneur d'électrons / accepteur d'électrons des supports du verre et d'aciers inoxydables en fonction des traitements par les désinfectants, nous avons suivi l'effet des différentes concentrations étudiées sur la topographie et la rugosité des surfaces. Cette dernière est obtenue à partir d'une analyse de rugosité réalisée par microscopie à force atomique pour les supports d'acier inoxydable et par un rugosimètre. Ce paramètre indique l'écart moyen arithmétique des valeurs d'ordonnées absolues dans une longueur d'échantillonnage (norme ISO(4287:1997, 1997)).

II.1. Traitements des surfaces par l'hypochlorite de sodium

🌀 Verre

L'évaluation de la rugosité de surface du verre avant et après traitement par hypochlorite de sodium a été réalisée par un rugosimètre. Les résultats des mesures sont présentés dans la figure 45.

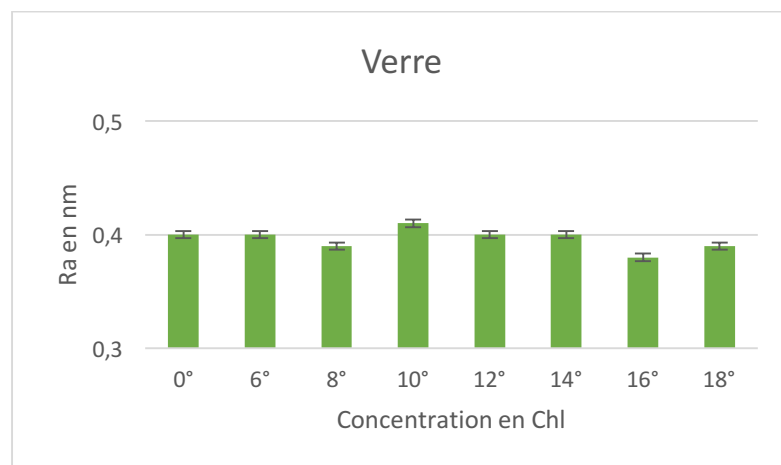


Figure 45: Variation de la rugosité du verre après traitement avec différentes concentrations d'hypochlorite de sodium

Pour tous les échantillons du verre, la rugosité de surface (Ra) de tous les supports n'a pas été affectée par l'hypochlorite de sodium à toutes les concentrations appliquées (figure 45).

☞ Aciers Inoxydables 304, 304L et 316L

Dans cette partie, nous avons focalisé notre étude sur l'influence des trois concentrations (10°, 12° et 14°Chl) de l'hypochlorite de sodium sur les supports des aciers inoxydables. Les résultats des observations et la rugosité des surfaces sont présentés dans les figures 46 et 47.

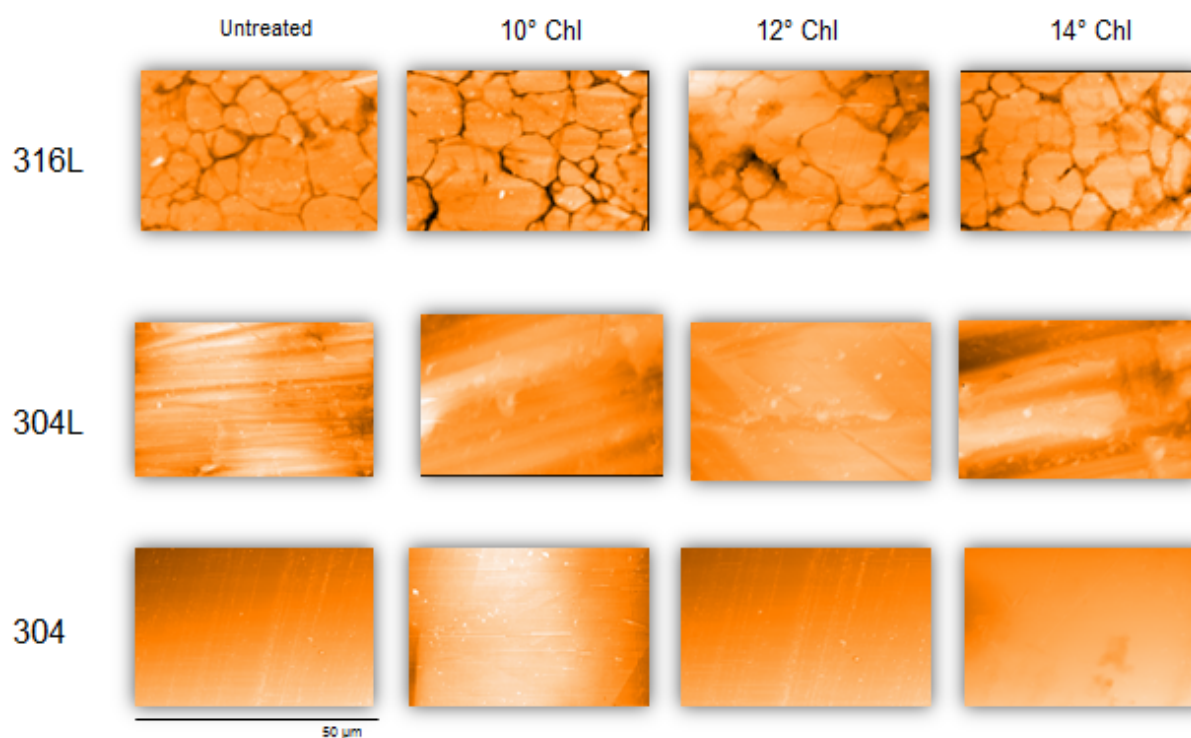


Figure 46: Observation par microscopie à force atomique des aciers inoxydables (304, 304L et 316L) après traitements à trois concentrations d'hypochlorite de sodium (10 °, 12 ° et 14 ° Chl). Toutes les images sont à 50x 50 µm.

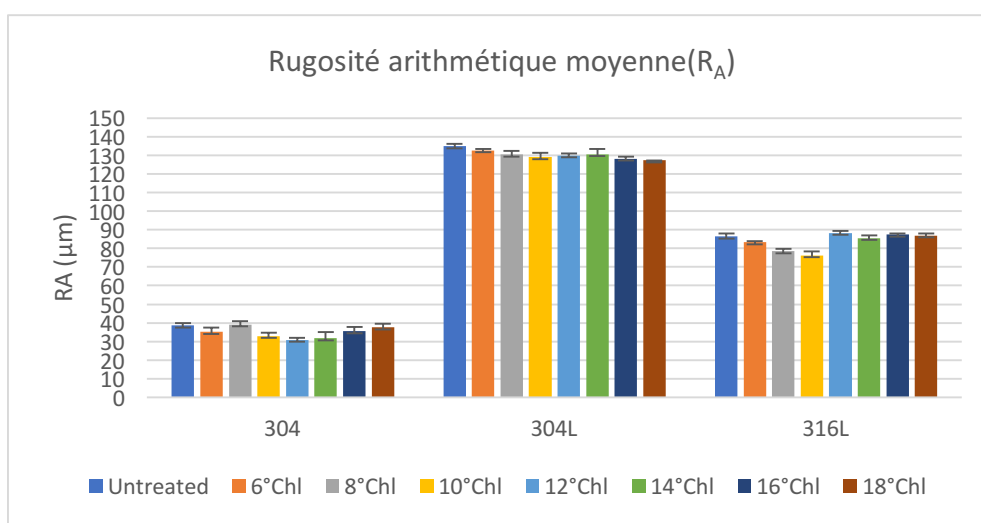


Figure 47: Variation de la rugosité des supports en acier inoxydable (304, 304L et 316L) après traitement avec différentes concentrations d'hypochlorite de sodium

Pour tous les échantillons en acier inoxydable, les observations produites par la microscopie à force atomique (AFM) indiquent que la topographie et la rugosité des surfaces (Ra) n'ont pas été modifiées suite aux traitements par l'hypochlorite de sodium (10 °, 12 ° et 14 ° Chl) avec un seul cycle de traitement.

II.2. Traitements des surfaces par le peroxyde d'hydrogène

🌀 Verre

L'évaluation de la rugosité de surface du verre avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène a été réalisée par un rugosimètre. Les résultats des mesures sont présentés dans la figure 48.

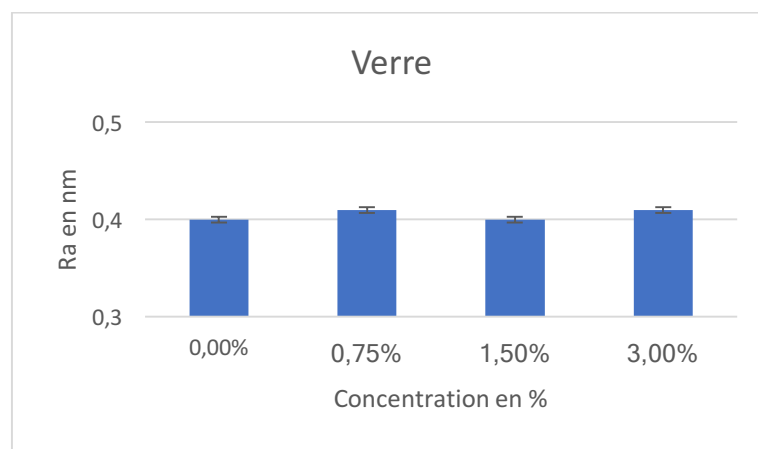


Figure 48: variation de la rugosité du verre après traitement avec différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène

Pour tous les échantillons du verre, la rugosité de surface (Ra) de tous les supports n'a pas été modifiée par le peroxyde d'hydrogène à toutes les concentrations appliquées.

🌀 Aciers Inoxydables 304, 304L et 316L

Les résultats des observations et la rugosité des surfaces par l'AFM avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène sont présentés dans les figures 49 et 50.

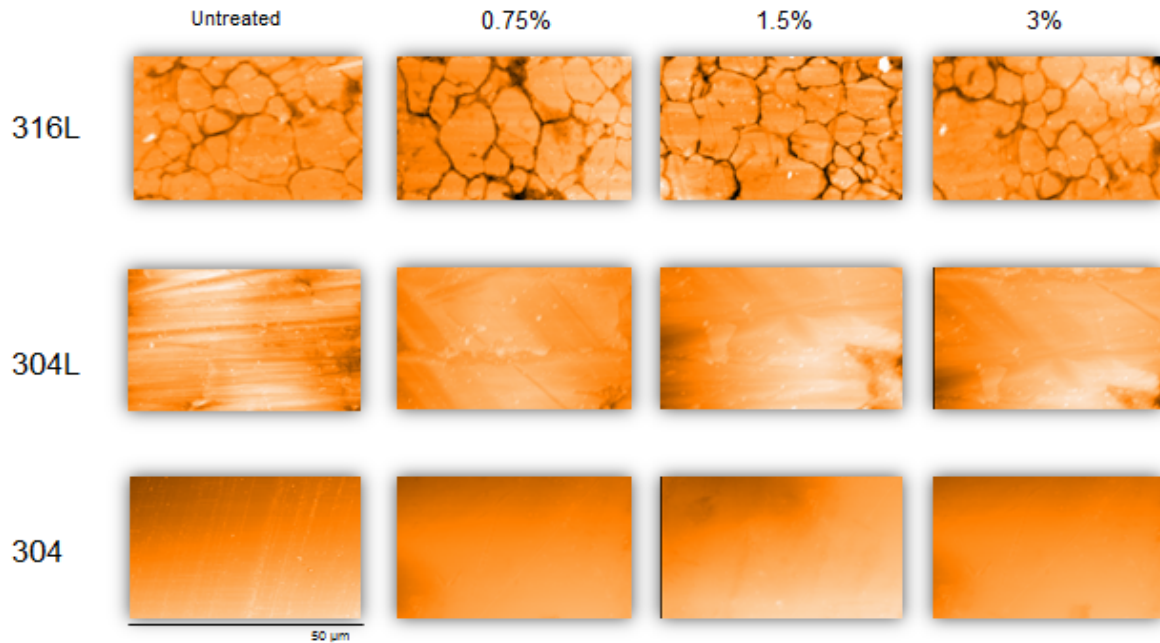


Figure 49: Observation par microscopie à force atomique des aciers inoxydables (304,304L et 316L) après traitements à trois concentrations du peroxyde d’hydrogène (0,75% ; 1,5% ; 3%). Toutes les images sont à 50x 50 µm.

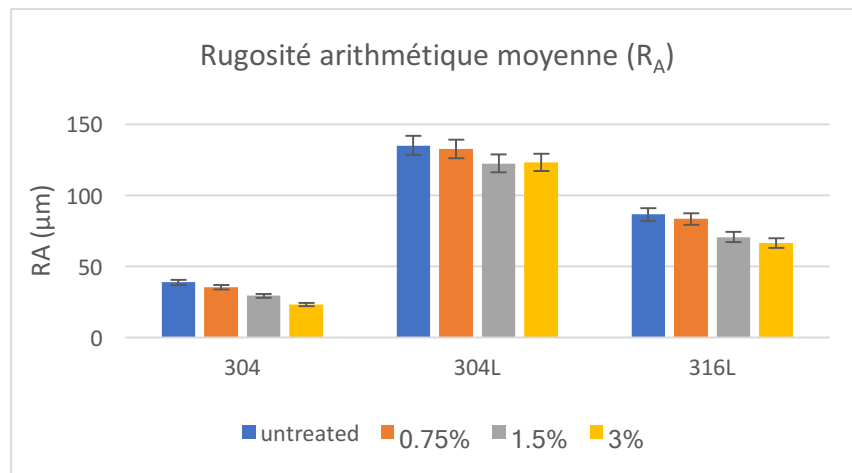


Figure 50: Variation de la rugosité des supports (R_a) en acier inoxydable (304, 304L, 316L) après traitement avec différentes concentrations du peroxyde d’hydrogène (0,75% ; 1,5% et 3%)

Les résultats des observations réalisées par l’AFM indiquent que la topographie et la rugosité des surfaces (R_a) n’ont pas changé suite aux traitements par le peroxyde d’hydrogène (figures 49 et 50).

Les traitements à l’hypochlorite de sodium et le peroxyde d’hydrogène n’ont pas modifiés significativement la topographie et la rugosité arithmétique moyenne (R_a) des surfaces du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L.

Cette stabilité de la rugosité de surface peut être due au temps de contact (15min) et le nombre de cycles de traitement (1 seul cycle) qui n'étaient pas suffisants pour modifier la rugosité arithmétique de surface R_a à des valeurs remarquables. L'analyse des autres composantes de rugosité de surfaces pourrait mieux nous renseigner sur le degré des micro-variations de la topographie.

En effet, plusieurs études ont été faites pour établir une relation entre les autres composantes de la rugosité, à savoir la profondeur des creux éliminés R_{VK} qui représente la profondeur moyenne des creux dépassant la partie centrale du profil, la hauteur des pics éliminés R_{PK} qui représente la hauteur moyenne des pics dépassant la partie centrale du profil et l'état d'hygiène de la surface :

(Jullien et al., 2003) ont suggéré que le paramètre largement utilisé R_a ne suffit pas pour décrire la topographie de surface et, par conséquent, pas les modifications de surface dues aux traitements de nettoyage. (Mettler and Carpentier, 1999) ont montré que R_{VK} (la réduction de la profondeur de la vallée) et R_a devraient être pris en compte pour établir une distinction entre la nettoyabilité des divers matériaux de revêtement de sol. En effet, Julien et ses collaborateurs (2003) ont étudié le statut hygiénique de l'acier inoxydable au regard de sept paramètres de rugosité normalisés parmi ceux analysés précédemment Faille et al. (2002). Ils ont indiqué que seul un paramètre (R_{PK}), correspondant à la hauteur de la partie supérieure du profil de surface, contrôlait le statut hygiénique. Dans des travaux antérieurs effectués par Faille et al., (2000) sur l'acier inoxydable 316L couramment, utilisé dans la fabrication de pompes, il a été montré que le statut hygiénique était lié aux valeurs de R_{VK} et de R_{PK} .

Néanmoins, les normes exigent un degré particulier de finition de surface pour les matériaux alimentaires ou de transformation de produits laitiers comme par exemple la norme allemande DIN (1992), qui spécifie que la rugosité moyenne de surface R_a ne devrait pas excéder 1,0 μm . La nettoyabilité des surfaces est souvent présentée comme une fonction décroissante en fonction de la rugosité (Flint et al., 2000). Parmi les auteurs qui ont traité spécifiquement le sujet, nous pouvons citer Holah & Thorpe (1990) et Harf *et al.* (1991). Ces auteurs ont montré que plus la rugosité augmente plus l'adhésion bactérienne est corrélée à une plus grande difficulté au nettoyage.

Selon Flint et al. (1997) et les recommandations du EHEDG (2004), des valeurs R_a de 0,8 μm ou moins sont généralement utilisées pour décrire un matériel hygiénique. Aussi, Bengourram et al. (2009) ont étudié l'effet des modifications de la rugosité des surfaces des supports de verre sur les propriétés physico-chimiques par des mesures d'angle de contact. Les résultats ont montré une valeur minimale pour les propriétés d'hydrophobicité et d'accepteur d'électrons pour une rugosité extrême ($R_a = 3,55 \mu\text{m}$ et $R_a = 0,46 \mu\text{m}$). La forte augmentation de l'hydrophobicité a été observée pour $R_a = 0,79 \mu\text{m}$. Les propriétés de la composante donneur d'électrons présentent une forte diminution à $R_a = 0,79 \mu\text{m}$. Ainsi, les modifications

de la topographie de surface engendrent des modifications importantes dans les propriétés de surfaces notamment l'hydrophobicité et le caractère donneur d'électrons.

D'après cette étude de Bengouram et co-auteurs, suite aux modifications des propriétés physicochimiques observées, une plage de valeurs de Ra comprises entre 0,48 μm et 1,47 μm sera considérée comme un niveau critique de rugosité du verre permettant de favoriser l'adhésion microbienne avec un maximum d'adhésion d'*E. coli* à Ra = 0,79 μm .

CONCLUSION

La variation des caractéristiques de l'énergie libre des surfaces du verre et des aciers inoxydables, soumises à divers traitements par l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène, dépend fortement du type de substrats étudiés, du type de désinfectant et de la concentration appliquée.

- Les aciers inoxydables 304 et 316L sont des matériaux hydrophobes tandis que l'acier inoxydable 304L et le verre sont des matériaux hydrophiles.
- L'augmentation de la concentration du traitement du verre, par de l'hypochlorite de sodium (jusqu'à 12°Cht) et du peroxyde d'hydrogène, a augmenté nettement l'hydrophobicité de surface (hydrophobe).
- L'augmentation de la concentration de traitement de l'acier 304L, par l'hypochlorite de sodium (jusqu'à 12°Cht) et le peroxyde d'hydrogène (jusqu'à 1,5%) a remarquablement augmenté l'hydrophobicité de surface (hydrophobe).
- Les traitements des aciers 304 et 316L par le peroxyde d'hydrogène et par les concentrations élevées de l'hypochlorite de sodium a remarquablement diminué l'hydrophobicité des surface (hydrophile).

De plus, les propriétés donneur et accepteur d'électrons des supports étudiés sont très instables vis à vis des traitements.

L'analyse des rugosités des surfaces du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L a montré que les traitements de surfaces par les deux désinfectants n'ont pas modifié ce paramètre. Ainsi, nous pouvons suggérer que l'étude des autres paramètres de rugosité (Rk, Rvk, Rpk) est nécessaire afin de vérifier toutes les modifications de la topographie de surface due aux traitements par les désinfections de cette étude.

Toutes ces variations dans les propriétés physicochimiques de la surface des substrats affectent fortement la bio-adhésion des cellules bactériennes. Dans les chapitres suivants, nous allons étudier l'effet de ces modifications des surfaces sur le potentiel adhésif des souches bactériennes des *Escherichia coli* et des salmonelles.

CHAPITRE VI : ETUDE DE L'ADHESION MICROBIENNE DES *ESCHERICHIA COLI* ET DES SALMONELLES SUR LES SUPPORTS TRAITES PAR LES DESINFECTANTS : L'APPROCHE PREDICTIVE

INTRODUCTION

L'utilisation du modèle théorique pour la prédiction de l'adhésion bactérienne aux supports peut constituer un outil d'aide à la prise de décision pour la sélection des matériaux peu propices à la colonisation microbienne, afin de prévenir leur utilisation dans les secteurs agroalimentaires. Ce modèle peut aussi être un outil important dans l'évaluation et l'analyse des risques de biocontamination dû aux modifications des caractéristiques et des propriétés des surfaces, notamment celles en contact des produits de nettoyage et désinfection dans les unités agroalimentaires.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'appliquer cette approche pour étudier l'effet de la modification des propriétés physico-chimiques des surfaces du verre et des aciers inoxydables (304, 304L et 316L) suite aux différents traitements de désinfection sur le potentiel adhésif des souches des *E. coli* et des salmonelles.

I. Etude du potentiel adhésif des *E. coli* sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par les désinfectants

I.1. Potentiel adhésif après désinfection par l'hypochlorite de sodium

En utilisant l'approche de DLVO, l'énergie totale (non électrostatique) de l'adhésion des *E. coli* (EM3 et EM4) sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par l'hypochlorite de sodium, est déterminée.

Les résultats des calculs sont détaillés dans les annexes (6, 7, 8, 9). Les résultats du calcul des énergies totales de l'adhésion sont présentés dans les tableaux 30 (A, B, C, D).

Tableau 29: Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm^{-2}) des *E. coli* sur le verre (A), l'acier 304 (B), l'acier 304L (C) et l'acier 316L (D) traités par l'hypochlorite de sodium.

| A | verre | | | | | | | |
|-------------------|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Bactérie | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° |
| <i>E.coli</i> 13 | 28,44 | 20,88 | 2,21 | -27,23 | 24,40 | 28,49 | -1,75 | 25,36 |
| <i>E.coli</i> 19 | 10,70 | 2,62 | -12,29 | -39,03 | 8,81 | 7,51 | -18,13 | 6,35 |
| <i>E.coli</i> 64 | 8,93 | 1,10 | -12,44 | -38,54 | 7,64 | 6,31 | -18,17 | 5,49 |
| <i>E.coli</i> 76 | 26,92 | 20,57 | 5,72 | -21,22 | 24,20 | 29,49 | 2,76 | 26,95 |
| <i>E.coli</i> 65 | 44,14 | 39,19 | 21,93 | -4,74 | 39,29 | 50,22 | 21,55 | 45,71 |
| <i>E.coli</i> 38 | -11,40 | -20,07 | -31,43 | -53,65 | -11,35 | -20,05 | -39,67 | -19,05 |
| <i>E.coli</i> EI1 | -13,84 | -22,42 | -32,18 | -54,32 | -12,93 | -21,77 | -40,48 | -20,28 |
| <i>E.coli</i> EI2 | 29,12 | 23,96 | 10,11 | -13,52 | 26,04 | 32,46 | 8,31 | 29,60 |
| <i>E.coli</i> EI3 | 27,85 | 24,26 | 13,50 | -5,52 | 25,31 | 32,46 | 12,93 | 29,85 |
| <i>E.coli</i> EI4 | 25,29 | 21,33 | 9,66 | -8,93 | 22,38 | 27,98 | 8,50 | 25,38 |
| <i>E.coli</i> EM3 | 9,65 | 2,48 | -9,27 | -34,49 | 8,96 | 8,79 | -14,33 | 8,15 |
| <i>E.coli</i> EM4 | 23,55 | 20,05 | 7,16 | -7,42 | 19,34 | 23,24 | 6,06 | 20,20 |

Forte adhésion

Faible adhésion

| B | Acier 304L | | | | | | | |
|-------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | Bactérie | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° |
| <i>E.coli</i> 13 | 26,20 | 15,22 | -18,56 | 1,13 | -3,33 | 24,43 | 13,65 | 22,95 |
| <i>E.coli</i> 19 | 8,28 | 2,42 | -37,88 | -9,90 | -19,57 | 6,04 | 3,16 | 5,05 |
| <i>E.coli</i> 64 | 6,90 | 1,95 | -38,46 | -10,08 | -19,88 | 5,11 | 2,59 | 4,08 |
| <i>E.coli</i> 76 | 25,94 | 16,68 | -13,96 | 3,63 | 0,46 | 25,66 | 14,25 | 24,02 |
| <i>E.coli</i> 65 | 43,51 | 29,51 | 10,31 | 16,04 | 19,35 | 43,85 | 24,68 | 41,84 |
| <i>E.coli</i> 38 | -14,66 | -14,76 | -60,95 | -24,27 | -40,26 | -18,29 | -10,62 | -18,46 |
| <i>E.coli</i> EI1 | -16,60 | -15,49 | -63,25 | -24,96 | -41,52 | -19,65 | -11,47 | -19,89 |
| <i>E.coli</i> EI2 | 28,35 | 18,70 | -4,67 | 7,08 | 6,32 | 28,29 | 15,82 | 26,73 |
| <i>E.coli</i> EI3 | 27,79 | 19,25 | 3,13 | 9,70 | 10,98 | 28,46 | 15,93 | 27,00 |
| <i>E.coli</i> EI4 | 24,55 | 16,11 | -0,69 | 6,92 | 7,10 | 24,35 | 13,67 | 23,12 |
| <i>E.coli</i> EM3 | 8,37 | 3,96 | -34,62 | -7,78 | -16,51 | 7,49 | 3,88 | 6,31 |
| <i>E.coli</i> EM4 | 21,61 | 12,56 | 2,17 | 5,42 | 6,16 | 19,83 | 11,31 | 19,13 |

Forte adhésion

Faible adhésion

| C | Acier 304 | | | | | | | | |
|-------------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-----|
| | Bactérie | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
| <i>E.coli</i> 13 | -21,09 | 14,38 | 17,53 | 6,22 | -11,63 | -1,29 | 19,69 | 25,07 | |
| <i>E.coli</i> 19 | -38,76 | -1,04 | 5,90 | -7,77 | -27,72 | -21,44 | -1,06 | 11,51 | |
| <i>E.coli</i> 64 | -38,40 | -1,42 | 5,65 | -8,40 | -28,01 | -22,16 | -2,12 | 10,33 | |
| <i>E.coli</i> 76 | -14,13 | 16,87 | 19,21 | 7,98 | -7,42 | 2,32 | 21,47 | 24,23 | |
| <i>E.coli</i> 65 | 8,32 | 32,75 | 30,38 | 23,28 | 12,28 | 25,51 | 42,94 | 36,93 | |
| <i>E.coli</i> 38 | -61,38 | -21,83 | -10,37 | -25,52 | -47,63 | -46,64 | -27,94 | -5,97 | |
| <i>E.coli</i> EI1 | -62,29 | -22,56 | -10,63 | -26,85 | -49,12 | -48,60 | -29,73 | -7,47 | |
| <i>E.coli</i> EI2 | -5,41 | 19,82 | 20,40 | 11,83 | -0,35 | 9,31 | 25,63 | 25,32 | |
| <i>E.coli</i> EI3 | 3,05 | 21,28 | 20,42 | 14,06 | 5,65 | 14,37 | 27,13 | 23,92 | |
| <i>E.coli</i> EI4 | -1,93 | 17,26 | 17,13 | 11,13 | 2,01 | 10,09 | 22,70 | 21,57 | |
| <i>E.coli</i> EM3 | -33,27 | 1,38 | 7,74 | -6,28 | -24,52 | -18,60 | 0,69 | 11,13 | |
| <i>E.coli</i> EM4 | -2,24 | 13,02 | 12,35 | 9,96 | 2,74 | 9,72 | 19,25 | 18,82 | |



| D | Acier 316L | | | | | | | | |
|-------------------|------------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-----|
| | Bactérie | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
| <i>E.coli</i> 13 | -25,55 | 1,47 | 21,09 | -11,44 | 11,26 | 53,21 | 27,52 | 25,28 | |
| <i>E.coli</i> 19 | -39,84 | -10,01 | 12,42 | -28,39 | -7,59 | 39,09 | 18,37 | 11,62 | |
| <i>E.coli</i> 64 | -39,44 | -10,08 | 11,96 | -28,60 | -8,30 | 37,58 | 18,14 | 10,45 | |
| <i>E.coli</i> 76 | -19,19 | 4,38 | 21,13 | -6,76 | 13,89 | 50,18 | 28,05 | 24,47 | |
| <i>E.coli</i> 65 | -0,05 | 17,24 | 28,57 | 13,88 | 34,11 | 60,26 | 35,22 | 37,27 | |
| <i>E.coli</i> 38 | -57,73 | -25,22 | 0,29 | -49,64 | -32,00 | 19,46 | 4,63 | -6,01 | |
| <i>E.coli</i> EI1 | -58,58 | -25,76 | -0,07 | -51,04 | -33,48 | 18,38 | 4,82 | -7,50 | |
| <i>E.coli</i> EI2 | -10,90 | 7,88 | 20,93 | 0,52 | 18,57 | 47,34 | 26,93 | 25,56 | |
| <i>E.coli</i> EI3 | -2,57 | 10,64 | 19,41 | 6,78 | 21,20 | 41,19 | 24,64 | 24,16 | |
| <i>E.coli</i> EI4 | -6,56 | 7,53 | 17,24 | 2,74 | 16,93 | 38,50 | 21,74 | 21,77 | |
| <i>E.coli</i> EM3 | -34,98 | -7,50 | 12,91 | -24,77 | -5,23 | 37,52 | 19,52 | 11,27 | |
| <i>E.coli</i> EM4 | -5,48 | 5,44 | 13,19 | 2,93 | 14,15 | 31,15 | 15,26 | 18,94 | |



Les résultats des prédictions montrent que, à l'exception des souches *E. coli* 38 et EI1, l'adhésion des *E. coli* sur le verre et l'acier 304L non traité serait défavorable (tableau 31).

Après traitement par l'hypochlorite de sodium, l'adhésion des *E. coli* deviendrait, généralement, favorable pour le verre aux concentrations 8°, 10° et 16°Chl et pour l'acier 304L à 8°, 10° et 12°Chl. Au-delà de ces concentrations, l'adhésion des *E. coli* resterait défavorable.

Les aciers 304 et 316L non traités, présenteraient généralement une adhésion thermodynamiquement favorable des *E. coli* (tableau 30, C, D). Après traitement par l'hypochlorite de sodium, l'adhésion des *E. coli* resterait toujours probable sur à l'acier 304 aux concentrations (12° et 14°Chl) et 316L aux concentrations (6°, 10° et 12°Chl). Au-delà de ces concentrations, le traitement réduit la possibilité d'adhésion des souches d'*E. coli*.

Il est très important de noter que les traitements de surface par une forte concentration de 18°Chl rendraient l'adhésion des *E. coli* défavorable pour tous les supports.

Les souches d'*E. coli* EI1 et 38 ont exprimé un potentiel d'adhésion très remarquable sur tous les supports après traitement par l'hypochlorite de sodium.

En générale, le traitement par les concentrations d'hypochlorite de sodium (10°, 12° et 14°Chl), qui sont recommandées par les organismes de sécurité des aliments et de la santé publiques (ONSSA, OMS...), ont modifié significativement les propriétés physicochimiques des supports, et par la suite, ont favorisé le potentiel d'adhésion des bactéries étudiées sur ces supports.

I.2. Potentiel adhésif après désinfection par le peroxyde d'hydrogène

Les résultats du calcul de l'énergie libre d'adhésion ΔG^{Tot} des bactéries *E. coli* sur le verre et les aciers inoxydables (304, 304L et 316L) avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) sont présentés dans les tableaux 31 (A, B, C, D). le calcul détaillé est présenté dans les annexes (10, 11, 12, 13).

Tableau 30 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm⁻²) des *E. coli* sur le verre (A), l'acier 304L (B), l'acier 304 (C) et l'acier 316L (D) traités par le peroxyde d'hydrogène

A :

| <i>Bactérie</i> | Verre | | | |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>E.coli 13</i> | 28,44 | -1,04 | 10,14 | 25,41 |
| <i>E.coli 19</i> | 10,70 | -13,69 | -2,54 | 6,39 |
| <i>E.coli 64</i> | 8,93 | -13,86 | -3,89 | 5,54 |
| <i>E.coli 76</i> | 26,92 | 2,06 | 9,30 | 27,00 |
| <i>E.coli 65</i> | 44,14 | 16,58 | 22,84 | 45,77 |
| <i>E.coli 38</i> | -11,40 | -30,09 | -17,39 | -19,02 |
| <i>E.coli EI1</i> | -13,84 | -30,90 | -19,60 | -20,25 |
| <i>E.coli EI2</i> | 29,12 | 6,36 | 12,45 | 29,65 |
| <i>E.coli EI3</i> | 27,85 | 9,78 | 13,18 | 29,89 |
| <i>E.coli EI4</i> | 25,29 | 6,58 | 11,78 | 25,42 |
| <i>E.coli EM3</i> | 9,65 | -11,12 | -3,38 | 8,20 |
| <i>E.coli EM4</i> | 23,55 | 5,18 | 13,05 | 20,22 |

B :

| <i>Bactérie</i> | 304L | | | |
|-------------------|--------|--------|--------|-------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>E.coli 13</i> | 26,20 | -23,75 | -5,64 | 24,93 |
| <i>E.coli 19</i> | 8,28 | -39,31 | -23,95 | 18,99 |
| <i>E.coli 64</i> | 6,90 | -39,92 | -25,39 | 17,30 |
| <i>E.coli 76</i> | 25,94 | -20,01 | -4,39 | 20,54 |
| <i>E.coli 65</i> | 43,51 | 0,62 | 17,43 | 24,77 |
| <i>E.coli 38</i> | -14,66 | -56,96 | -44,92 | 12,67 |
| <i>E.coli EI1</i> | -16,60 | -59,31 | -48,03 | 10,72 |
| <i>E.coli EI2</i> | 28,35 | -11,13 | 3,00 | 19,43 |
| <i>E.coli EI3</i> | 27,79 | -3,50 | 7,77 | 15,67 |
| <i>E.coli EI4</i> | 24,55 | -6,07 | 5,41 | 16,35 |
| <i>E.coli EM3</i> | 8,37 | -36,94 | -23,46 | 15,41 |
| <i>E.coli EM4</i> | 21,61 | -1,34 | 9,34 | 17,16 |



C :

| Bactérie | 304 | | | |
|-------------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>E.coli 13</i> | -21,09 | 26,12 | 30,71 | 41,86 |
| <i>E.coli 19</i> | -38,76 | 14,19 | 9,85 | 23,35 |
| <i>E.coli 64</i> | -38,40 | 12,81 | 8,06 | 21,88 |
| <i>E.coli 76</i> | -14,13 | 24,19 | 29,90 | 40,74 |
| <i>E.coli 65</i> | 8,32 | 34,98 | 50,38 | 57,15 |
| <i>E.coli 38</i> | -61,38 | -0,79 | -16,53 | -1,37 |
| <i>E.coli EI1</i> | -62,29 | -2,48 | -19,04 | -2,95 |
| <i>E.coli EI2</i> | -5,41 | 24,70 | 32,76 | 41,02 |
| <i>E.coli EI3</i> | 3,05 | 22,55 | 31,94 | 37,95 |
| <i>E.coli EI4</i> | -1,93 | 20,98 | 28,48 | 34,27 |
| <i>E.coli EM3</i> | -33,27 | 12,85 | 9,47 | 23,11 |
| <i>E.coli EM4</i> | -2,24 | 19,16 | 25,75 | 28,31 |

D :

| Bactérie | 316L | | | |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>E.coli 13</i> | -25,55 | 25,75 | 24,64 | 23,10 |
| <i>E.coli 19</i> | -39,84 | 6,16 | 6,18 | 8,50 |
| <i>E.coli 64</i> | -39,44 | 5,31 | 5,29 | 7,42 |
| <i>E.coli 76</i> | -19,19 | 27,49 | 26,00 | 22,94 |
| <i>E.coli 65</i> | -0,05 | 46,86 | 44,23 | 37,04 |
| <i>E.coli 38</i> | -57,73 | -20,04 | -18,34 | -10,43 |
| <i>E.coli EI1</i> | -58,58 | -21,27 | -19,63 | -11,88 |
| <i>E.coli EI2</i> | -10,90 | 30,27 | 28,60 | 24,62 |
| <i>E.coli EI3</i> | -2,57 | 30,61 | 28,79 | 23,91 |
| <i>E.coli EI4</i> | -6,56 | 25,96 | 24,57 | 21,13 |
| <i>E.coli EM3</i> | -34,98 | 8,11 | 7,76 | 8,68 |
| <i>E.coli EM4</i> | -5,48 | 20,57 | 19,80 | 18,17 |



L'analyse des résultats du modèle prédictif en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations 0,75% ; 1,5% et 3% indique que :

L'adhésion microbienne des souches d'*E. coli* étudiées serait thermodynamiquement défavorable sur le verre et l'acier 304L non traité. Les traitements de désinfection de ces supports par des concentrations de 0,75% et 1,5% rendraient l'adhésion des souches d'*E. coli* favorable.

Par contre, l'adhésion des *E. coli* serait favorable sur les aciers 304 et 316L non traité. Après traitement par le désinfectant, l'adhésion microbienne des *E. coli* serait défavorable pour toutes les concentrations étudiées.

Le traitement à 3% de peroxyde d'hydrogène rendrait l'adhésion des *E. coli* défavorable à tous les supports étudiés ce qui améliorerait leurs statuts hygiéniques.

Il est important de noter que les souches *E. coli* EI1 et 38 ont exprimé un potentiel d'adhésion très remarquable à tous les supports avant et après traitement par le peroxyde d'hydrogène.

- Avant traitement par les désinfectants, l'adhésion microbienne des *E. coli* est thermodynamiquement défavorable sur le verre et l'acier 304L, alors qu'elle est favorable sur les aciers 304 et 316L.
- D'où le classement du statut hygiénique des supports non traités est :
Plus hygiénique Verre > 304L > 304 > 316L Moins hygiénique
- Le traitement du verre et des aciers 304, 304L et 316L par des concentrations moyennes d'hypochlorite de sodium rendrait l'adhésion des *E. coli* favorable sur ces supports.
- Le traitement à 3% de peroxyde d'hydrogène rendrait l'adhésion des *E. coli* défavorable à tous les supports étudiés.
- A faible et moyenne concentrations, le peroxyde d'hydrogène inverse le potentiel adhésif des *E. coli* sur les supports étudiés. Il serait favorable sur le verre et l'acier 304L et défavorable pour l'acier 304 et 316L.
- Les souches *E. coli* EI1 et 38 ont exprimé un potentiel d'adhésion très remarquable à tous les supports avant et après traitement par les deux désinfectants.

En se basant sur ces résultats, nous avons calculé le pourcentage des cas de traitements favorisant l'adhésion microbienne des *E. coli* par rapport au total des cas étudiés (tableau 32). Ceci nous a permis d'évaluer le matériau le plus hygiénique après traitement de désinfection.

Tableau 31 : Pourcentage des cas de traitements favorisant l'adhésion microbienne des *E. coli* par rapport au total des cas étudiés

| | Nombre de traitements favorisant l'adhésion microbienne des <i>E. coli</i> x 100 / Total des cas étudiés | | | |
|---------------------------|--|------------|-----------|------------|
| Supports Désinfectants | Verre | Acier 304L | Acier 304 | Acier 316L |
| Hypochlorite de sodium | 36% | 33% | 36% | 23% |
| Peroxyde d'hydrogène | 36% | 52% | 12% | 16% |

Ainsi, le classement du statut hygiénique des supports avant et après traitements par les deux désinfectants est :

- Avant traitement :

Verre > 304L > 304 > 316L

Plus hygiénique \longrightarrow Moins hygiénique

- Après traitement par l'hypochlorite de sodium :

316L > 304L > 304 > Verre

Plus hygiénique \longrightarrow Moins hygiénique

- Après traitement par le peroxyde d'hydrogène :

304 > 316L > Verre > 304L

Plus hygiénique \longrightarrow Moins hygiénique

II. Etude du potentiel adhésif des salmonelles sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par les désinfectants

II.1. Potentiel adhésif après désinfection par l'hypochlorite de sodium

Les résultats du calcul de l'énergie libre d'adhésion ΔG^{Tot} des Salmonelles sur le verre et les aciers inoxydables (304, 304L et 316L) avant et après traitement par l'hypochlorite de sodium aux concentrations (6°, 8°, 10°, 12°, 14°, 16° et 18°Chl) sont présentés dans les tableaux 33 (A, B, C, D). (voir calcul détaillé dans les annexes 14, 15, 16 et 17).

Tableau 32 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm⁻²) des salmonelles sur le verre (A) , l'acier 304L (B), l'acier 304 (C) et l'acier 316L (D) traités par l'hypochlorite de sodium

A :

| Bactérie | verre | | | | | | | |
|--------------------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
| <i>S. muenster</i> | 44,27 | 53,64 | 17,99 | -6,39 | 17,16 | 46,31 | 37,29 | 40,37 |
| <i>S. newport</i> | 35,59 | 44,68 | 8,20 | -18,13 | 5,56 | 35,32 | 29,59 | 30,54 |
| <i>S. kentucky</i> | 46,40 | 41,84 | 22,97 | -6,24 | 22,41 | 53,65 | 41,72 | 48,55 |
| <i>S. infantis</i> | 38,78 | 46,92 | 11,33 | -15,49 | 9,13 | 39,56 | 32,59 | 34,45 |
| <i>S. mbandaka</i> | 31,58 | 34,12 | 5,37 | -23,69 | 1,98 | 32,48 | 27,19 | 28,75 |

B :

| Bactérie | Acier 304L | | | | | | | |
|--------------------|------------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
| <i>S. muenster</i> | 41,73 | 25,99 | 11,41 | 13,68 | 16,95 | 39,75 | 22,58 | 38,56 |
| <i>S. newport</i> | 32,64 | 19,00 | -4,61 | 6,09 | 5,19 | 30,08 | 17,02 | 28,95 |
| <i>S. kentucky</i> | 46,02 | 31,68 | 9,19 | 16,81 | 19,82 | 46,81 | 26,24 | 44,79 |
| <i>S. infantis</i> | 36,06 | 21,71 | -0,78 | 8,45 | 8,58 | 33,83 | 19,14 | 32,59 |
| <i>S. mbandaka</i> | 29,44 | 17,71 | -13,62 | 3,57 | 0,45 | 27,86 | 15,58 | 26,40 |

C :

| Bactérie | Acier 304 | | | | | | | |
|--------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
| <i>S. muenster</i> | 4,66 | 27,94 | 25,39 | 21,64 | 11,02 | 23,86 | 39,64 | 35,38 |
| <i>S. newport</i> | -10,39 | 19,05 | 19,56 | 12,74 | -1,63 | 9,69 | 27,70 | 29,22 |
| <i>S. kentucky</i> | 7,80 | 35,03 | 32,91 | 24,14 | 11,72 | 25,96 | 45,43 | 39,17 |
| <i>S. infantis</i> | -6,47 | 22,37 | 22,14 | 15,52 | 1,65 | 13,73 | 31,88 | 31,77 |
| <i>S. mbandaka</i> | -16,40 | 17,43 | 19,67 | 9,16 | -7,67 | 3,31 | 23,82 | 27,32 |

D :

| Bactérie | Acier 316L | | | | | | | |
|--------------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 6° | 8° | 10° | 12° | 14° | 16° | 18° |
| <i>S. muenster</i> | -2,21 | 14,00 | 25,15 | 12,03 | 30,03 | 31,27 | 54,12 | 35,67 |
| <i>S. newport</i> | -15,45 | 6,21 | 21,84 | -1,26 | 27,28 | 19,72 | 51,13 | 29,45 |
| <i>S. kentucky</i> | -1,28 | 18,15 | 31,01 | 13,67 | 38,71 | 35,77 | 65,09 | 39,57 |
| <i>S. infantis</i> | -12,30 | 8,71 | 23,68 | 2,27 | 29,33 | 23,51 | 53,97 | 32,03 |
| <i>S. mbandaka</i> | -21,47 | 4,04 | 22,44 | -7,21 | 29,33 | 15,58 | 53,70 | 27,58 |

Forte adhésion

Faible adhésion

Les résultats de l'adhésion prédictive des sérovars de *Salmonella* sur le verre et les aciers inoxydables (304, 304L et 316L) après traitement par l'hypochlorite de sodium montrent que :

- Avant le traitement de désinfection, l'adhésion de tous les sérovars de *Salmonella* ne serait pas favorable sur le verre et l'acier 304L. Alors qu'elle serait favorable sur les aciers 304 et 316L.
- Le traitement des surfaces du verre et de l'acier 304L n'a pas modifié le potentiel adhésif des salmonelles à l'exception de la concentration 10°Chl pour le verre et 8°Chl pour l'acier 304L.
- Le traitement des surfaces des aciers 304 et 316L défavoriserait, généralement, le potentiel adhésif des salmonelles.

II.2. Potentiel adhésif après désinfection par le peroxyde d'hydrogène

Le calcul de l'énergie libre d'adhésion des souches de salmonelles sur le verre et les aciers inoxydables préalablement traités par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ;1,5% et 3%) est présenté dans les tableaux 34 (A, B, C, D). (voir calcul détaillé dans les annexes 17, 18, 19 et 20)

Tableau 33 : Energies libres d'adhésion ΔG^{Total} (mJm^{-2}) des salmonelles sur le verre (A) , l'acier 304L (B), l'acier 304 (C) et l'acier 316L (D) traités par le peroxyde d'hydrogène.

A :

| Bactérie | Verre | | | |
|--------------------|--------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>S. muenster</i> | 44,09 | 13,96 | 24,99 | 20,55 |
| <i>S. newport</i> | 35,47 | 5,01 | 17,52 | 10,04 |
| <i>S. kentucky</i> | 46,27 | 17,21 | 23,10 | 26,49 |
| <i>S. infantis</i> | 38,65 | 7,71 | 19,66 | 13,48 |
| <i>S. mbandaka</i> | 31,51 | 1,87 | 12,61 | 7,23 |

B :

| Bactérie | 304L | | | |
|--------------------|--------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>S. muenster</i> | 41,62 | 19,49 | 21,07 | 28,32 |
| <i>S. Newport</i> | 32,58 | 10,95 | 7,64 | 27,46 |
| <i>S. kentucky</i> | 45,94 | 17,50 | 16,23 | 25,71 |
| <i>S. infantis</i> | 35,99 | 13,21 | 10,84 | 28,05 |
| <i>S. mbandaka</i> | 29,40 | 5,58 | -1,43 | 25,41 |

C :

| Bactérie | 304 | | | |
|--------------------|--------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>S. muenster</i> | 4,66 | 34,87 | 49,12 | 52,97 |
| <i>S. newport</i> | -10,39 | 29,99 | 38,62 | 45,53 |
| <i>S. kentucky</i> | 7,80 | 36,94 | 52,99 | 61,26 |
| <i>S. infantis</i> | -6,47 | 32,07 | 42,50 | 49,15 |
| <i>S. mbandaka</i> | -16,40 | 27,95 | 34,42 | 44,74 |

D :

| Bactérie | 316L | | | |
|--------------------|--------|-------|-------|-------|
| | Témoin | 0,75% | 1,50% | 3,00% |
| <i>S. muenster</i> | -2,20 | 41,59 | 39,71 | 34,94 |
| <i>S. newport</i> | -15,47 | 31,29 | 30,07 | 27,79 |
| <i>S. kentucky</i> | -1,28 | 50,10 | 47,19 | 39,29 |
| <i>S. infantis</i> | -12,31 | 35,36 | 33,85 | 30,61 |
| <i>S. mbandaka</i> | -21,50 | 29,40 | 28,06 | 25,67 |



L'analyse des résultats montre que le potentiel d'adhésion des sérovars de *Salmonella* au verre et à l'acier inoxydable 304L non traité serait thermodynamiquement impossible.

Le traitement de ces supports par toutes les concentrations de peroxyde d'hydrogène n'affecterait pas ce résultat.

En outre, l'adhésion microbienne des salmonelles est généralement possible sur les aciers 304 et 316L non traités. Par contre, le traitement de ces substrats par toutes les concentrations du peroxyde d'hydrogène rendrait l'adhésion des salmonelles défavorable.

En analysant tous les résultats, nous remarquons que le traitement de tous les supports étudiés par le peroxyde d'hydrogène rend ces matériaux plus hygiéniques.

- Avant le traitement de désinfection, l'adhésion de tous les sérovars de *Salmonella* ne serait pas favorable sur le verre et l'acier 304L. Alors qu'elle serait favorable sur les aciers 304 et 316L.
- D'où le classement du statut hygiénique des supports non traités est :

Plus hygiénique Verre > 304L > 304 > 316L Moins hygiénique

- Le verre et l'acier 304L ne favoriseraient pas l'adhésion des salmonelles avant et après traitement par les deux désinfectants à l'exception de certaines concentrations d'hypochlorite de sodium (10°Chl et 8°Chl).
- Le traitement des surfaces des aciers 304 et 316L par les deux désinfectants inhiberait, généralement, le potentiel adhésif des salmonelles.

En se basant sur ces résultats, nous avons calculé le pourcentage des cas de traitements favorisant, thermodynamiquement, l'adhésion microbienne des salmonelles par rapport au total des cas étudiés (Tableau 35). Ceci nous a permis d'évaluer le matériau le plus hygiénique après traitement de désinfection.

Tableau 34 : Pourcentage des cas de traitements favorisant l'adhésion microbienne des salmonelles par rapport au total des cas étudiés

| | Nombre de traitements favorisant l'adhésion microbienne des salmonelles $\times 100$ / Total des cas étudiés | | | |
|-------------------------|--|------------|-----------|------------|
| Support Désinfectant | Verre | Acier 304L | Acier 304 | Acier 316L |
| Hypochlorite de sodium | 14% | 8,5% | 5,7% | 5,7% |
| Peroxyde d'hydrogène | 0% | 2,8% | 0% | 0% |

Ainsi, le classement du statut hygiénique des supports avant et après traitements par les deux désinfectants est :

- Avant traitement :

Verre > 304L > 304 > 316L

Plus hygiénique
▶
 Moins hygiénique

- Après traitement par l'hypochlorite de sodium :

316L > 304 > 304L > Verre

Plus hygiénique
▶
 Moins hygiénique

- Après traitement par le peroxyde d'hydrogène :

304 > 316L > Verre > 304L

Plus hygiénique
▶
 Moins hygiénique

- Avant traitement par l'hypochlorite de sodium, l'acier 316L était le matériau le plus sensible à l'adhésion microbienne alors que le verre est le plus résistant à l'adhésion des *E. coli* et des salmonelles de point de vue thermodynamique. Après traitement, ce classement est inversé.
- Le traitement des supports par le peroxyde d'hydrogène a totalement modifié les statuts hygiéniques des surfaces : Il a rendu l'acier 304 le matériau le plus hygiénique vis à vis de l'adhésion microbienne de toutes les souches étudiées.

Le phénomène de l'adhésion des micro-organismes aux surfaces peut être appréhendé sous un angle strictement thermodynamique (Busscher, 1984). D'après l'approche thermodynamique étendue (DVLO étendue) dans laquelle les interactions physico-chimiques sont considérées, l'adhésion d'un micro-organisme n'est énergétiquement favorisée que lorsque ΔG^{TOT} est négative.

Ce modèle peut aussi être un outil important dans la prédiction des risques de biocontamination dus aux modifications des propriétés des surfaces par l'utilisation fréquente des produits chimiques de nettoyage et désinfection dans les unités agroalimentaires.

Dans le présent travail, nous avons démontré que les changements des propriétés physicochimiques des surfaces du verre et des aciers inoxydables suite aux traitements de désinfection, ont fortement influencé le potentiel adhésif des souches des *E. coli* et des salmonelles. D'une manière générale, ces modifications ont baissé le statut hygiénique des supports du verre, par contre, une amélioration importante dans le statut hygiénique des aciers 316L a remarquablement été développée par les traitements aux deux désinfectants.

Dans le même sens, (Bellon-Fontaine and Cerf, 1991) ont rapporté que, d'une façon générale, en modifiant la rugosité et les propriétés physico-chimiques du substrat on obtient une nouvelle interface qui va devenir un des acteurs de l'adhésion bactérienne. Aussi, (Boulangue-Petermann et al., 1994) ont rapporté que les produits nettoyants ou désinfectants peuvent modifier les propriétés de surfaces des matériaux et par conséquent l'adhésion bactérienne aux surfaces. En effet, (Boulangue-Petermann et al., 1993) ont reporté que le mode de nettoyage des surfaces solides a largement modifié les caractéristiques énergétiques d'échantillons d'acier inoxydable AISI 304 en les rendant plus ou moins hydrophobes ce qui a influencé fortement l'adhésion de *Streptococcus thermophilus*.

CONCLUSION

La qualité hygiénique des aliments nécessite une maîtrise microbiologique des surfaces des équipements des ateliers de transformation alimentaire.

Toutes les modifications des propriétés physicochimiques des surfaces du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L, suites aux protocoles de désinfection par l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène, sont accompagnées par la possibilité d'adhésion des souches *E. coli* et des salmonelles à ces surfaces.

- Avant traitement par les désinfectants, l'adhésion microbienne des *E. coli* et des salmonelles est thermodynamiquement défavorable sur le verre et l'acier 304L, alors qu'elle est favorable sur les aciers 304 et 316L.
- Le traitement du verre et des aciers 304, 304L et 316L par des concentrations moyennes d'hypochlorite de sodium rendraient l'adhésion microbienne généralement favorable sur ces supports.
- Le traitement des surfaces des aciers 304 et 316L par les deux désinfectants inhiberait, généralement, le potentiel adhésif des *E. coli* et des salmonelles.
- Les souches *E. coli* E11 et 38 ont exprimé un potentiel d'adhésion très remarquable à tous les supports avant et après traitement par les deux désinfectants. Ces deux souches pourraient avoir un intérêt dans l'indication du risque hygiénique.

Avant traitement, le verre serait le matériau le plus hygiénique vis à vis de l'adhésion des *E. coli* et des salmonelles.

Après traitement par l'hypochlorite de sodium, l'acier 316L deviendrait le support le plus hygiénique vis à vis de l'adhésion des bactéries étudiées.

Après traitement par le peroxyde d'hydrogène, l'acier 304 deviendrait le support le plus hygiénique vis à vis de l'adhésion des bactéries étudiées.

La vérification de ces prévisions par le biais de l'étude de l'adhésion expérimentale fera l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE VII : EVALUATION DE L'EFFET DES TRAITEMENTS DE LA SURFACE DU VERRE PAR LES DESINFECTANTS SUR LE POUVOIR D'ADHERENCE DES *ESCHERICHIA COLI* ET DES SALMONELLES

INTRODUCTION

La diversité des produits désinfectants disponibles sur le marché ne cesse d'augmenter. La recherche d'un outil scientifique pour faire un choix approprié de désinfectant efficace, en tenant compte des différents facteurs pouvant le moduler, à savoir les types d'organismes ciblés, le milieu environnant et les caractéristiques des produits désinfectants, est donc de toute première importance.

Par ailleurs, un choix efficient des désinfectants doit se baser, non seulement sur leurs efficacités sur les bactéries à l'état planctonique ou adhérente, mais également sur les modifications des propriétés physicochimiques qu'effectuent ces produits sur les surfaces et toute conséquence sur la biocontamination.

A ce titre, nous avons étudié expérimentalement l'influence des traitements du verre par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium et de peroxyde d'hydrogène sur l'adhésion microbienne.

Les souches objets de cette étude sont *E. coli* (EM3, EM4) et salmonelle (*S. newport* ; *S. kentucky*) d'origine alimentaire. Le pouvoir d'adhérence très important de ces souches, démontré dans la première partie de ce travail, a motivé le choix de ces bactéries.

Par ailleurs, nous avons également examiné la relation entre l'adhésion bactérienne et les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire par l'analyse de la régression multiple.

I. Etude de l'adhésion microbienne des *Escherichia coli* sur le verre traité par les désinfectants

I.1. Adhésion après traitement du verre par l'hypochlorite de sodium

Dans la présente partie, nous avons étudié l'adhésion microbienne des *E. coli* (EM3 et EM4) au verre, après traitement par l'hypochlorite de sodium à (0° ; 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl) pendant un temps de contact de 15min.

Les cellules adhérentes sur les supports du verre traités par l'hypochlorite de sodium ont été observées à l'aide d'un microscope optique couplé à un écran d'ordinateur (figure 51). La quantification de l'adhésion microbienne a été évaluée par l'estimation du pourcentage de la surface occupée par les bactéries à l'aide d'un programme développé sur le logiciel Matlab[®]. Les résultats de traitement d'images sont présentés dans le tableau 36.





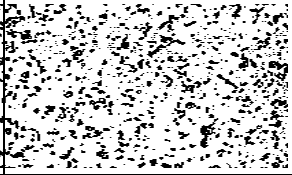
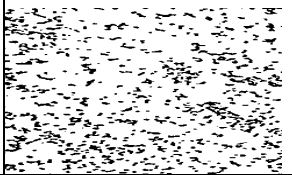
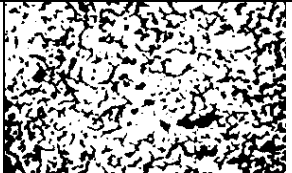
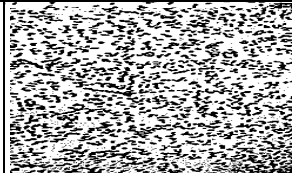
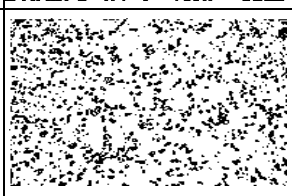
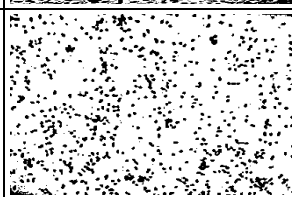
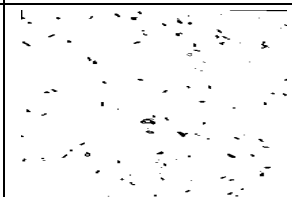
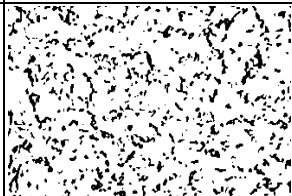
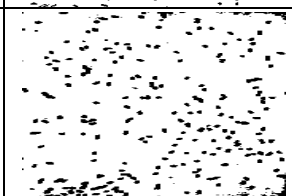

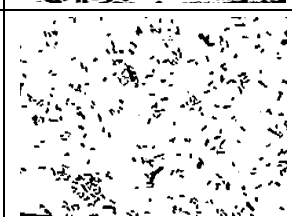

| Souches [C] en °Chl | <i>E. coli</i> EM3 | <i>E. coli</i> EM4 |
|---------------------------|---|--|
| 0° |  |  |
| 6° |  |  |
| 8° |  |  |
| 10° |  |  |
| 12° |  |  |
| 14° |  |  |
| 16° |  |  |
| 18° |  |  |

Figure 51 : Observations au microscope optique des *E. coli* EM3 et EM4 adhérees au verre traité par l'hypochlorite de sodium à (0° ; 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl) après 15 mn d'application. Grossissement (Gx400).

Tableau 35 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des *E. coli* EM3 et EM4 sur le verre, après 15min d'application de différentes concentrations de l'hypochlorite de sodium à (0° ; 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl)

| Pourcentage des cellules adhérentes au verre (%) | | |
|--|--------------------|--------------------|
| Souches [C] en °Chl | <i>E. coli</i> EM3 | <i>E. coli</i> EM4 |
| 0° | 33 | 62 |
| 6° | 28 | 40 |
| 8° | 31 | 35 |
| 10° | 48 | 58 |
| 12° | 35 | 34 |
| 14° | 6 | 38 |
| 16° | 12 | 41 |
| 18° | 16 | 28 |

Ces résultats nous ont permis de comparer la capacité d'adhésion des *E. coli* EM3 et EM4 sur le verre préalablement traité par l'hypochlorite de sodium (figure 52).

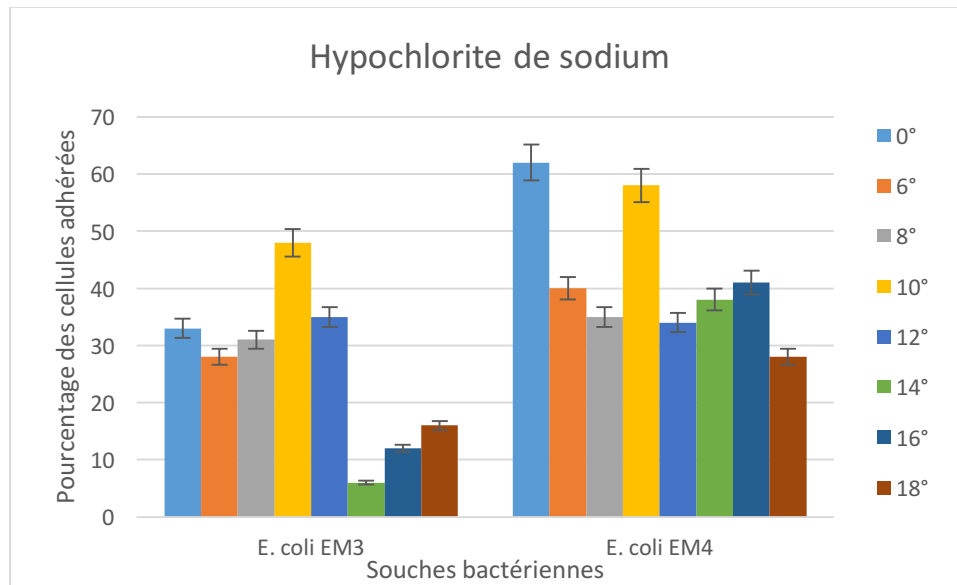


Figure 52 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérees d'*E. coli* EM3 et EM4 au verre traité par différentes concentrations de l'hypochlorite de sodium après 15min d'application.

D'après l'analyse des résultats, nous pouvons voir clairement que la capacité d'adhésion des *E. coli* (EM3 et EM4) varie en fonction de la souche bactérienne et de la concentration du désinfectant.

Le pourcentage l'adhésion d'*E. coli* EM3 est affecté de deux façons ; à la concentration 10°Chl, ce pourcentage a augmenté très remarquablement (30% par rapport au témoin). Alors que les concentrations élevées d'hypochlorite de sodium (14°, 16° et 18°Chl) ont diminué l'adhésion jusqu'à 80% par rapport au témoin.

A l'exception de la concentration de 10°Chl, le traitement préalable du verre par toutes les autres concentrations d'hypochlorite de sodium a diminué le pourcentage des cellules adhérees d'*E. coli* EM4 jusqu'à 55 % de la valeur initiale.

I.2. Adhésion après traitement du verre par le peroxyde d'hydrogène

Les résultats des observations microscopiques et des quantifications des cellules adhérees de *E. coli* (EM3 et EM4) au verre, traité par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) pendant 15 min sont présentés dans les figures 53 et 54 et le tableau 37.

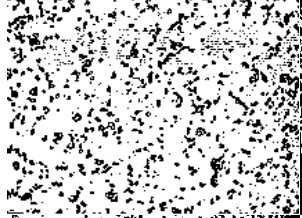

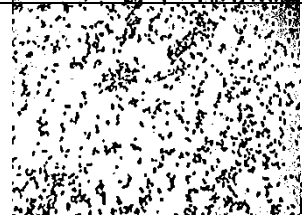
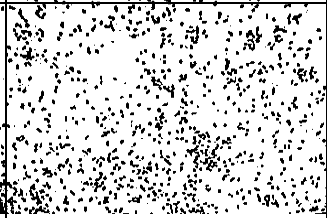
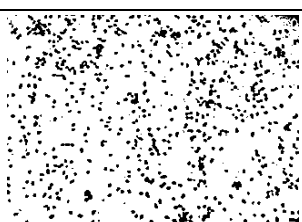
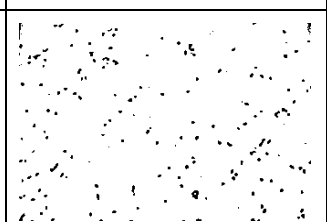
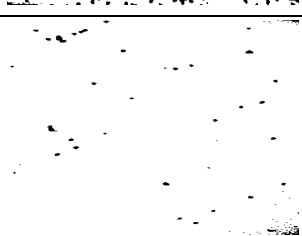
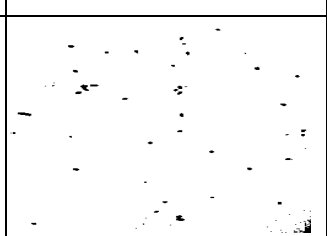
| Souches [C] en % | <i>E. coli</i> EM3 | <i>E. coli</i> EM4 |
|---------------------|---|--|
| 0% |  |  |
| 0,75% |  |  |
| 1,5% |  |  |
| 3% |  |  |

Figure 53 : Observations au microscope optique des *E. coli* EM3 et EM4 adhérees au verre traité par le peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%) après 15 mn d'application. Grossissement (Gx400).

Tableau 36 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des souches *d'E. coli* EM3 et EM4 sur le verre après 15min d'application de différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%).

| | | Pourcentage des cellules adhérentes au verre (%) | |
|------------------------|--------------------|--|--|
| Souches [C] en % | | | |
| | <i>E. coli</i> EM3 | <i>E. coli</i> EM4 | |
| 0% | 33 | 62 | |
| 0,75% | 39 | 37 | |
| 1,5% | 32 | 9 | |
| 3% | 0,3 | 5,5 | |

Ces résultats nous ont permis de comparer la capacité d'adhésion des *E. coli* EM3 et EM4 sur le verre préalablement traité par le peroxyde d'hydrogène (figure 54).

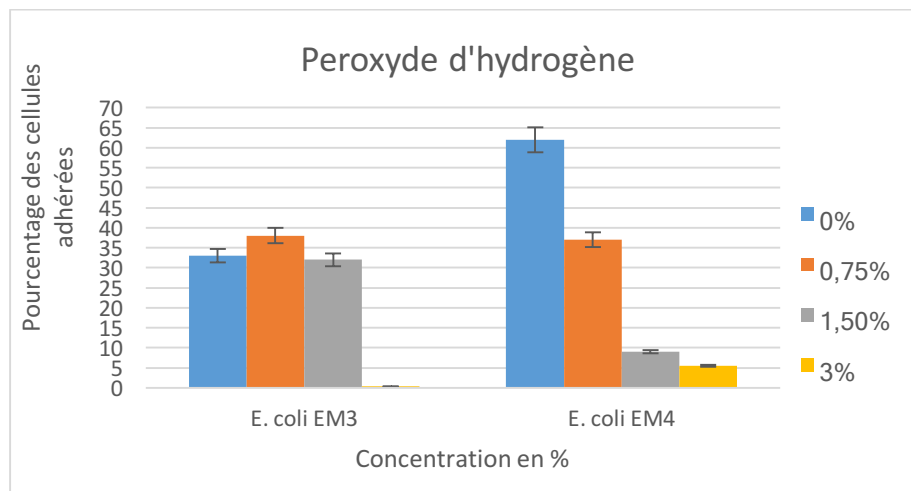


Figure 54 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérentes d'*E. coli* EM3 et EM4 au verre traité par différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène après 15min d'application.

D'après l'analyse de la figure 54, nous pouvons remarquer que :

Le traitement préalable du verre par les concentrations 0,75% et 1,5% du peroxyde d'hydrogène n'a pas modifié le pourcentage d'adhésion des *E. coli* EM3.

Le traitement préalable du verre par les concentrations 0,75%, 1,5% et 3% a diminué progressivement le pourcentage d'adhésion des *E. coli* EM4 jusqu'à 91% par rapport au témoin.

La concentration de 3% de peroxyde d'hydrogène semble rendre le support du verre moins favorable à l'adhésion microbienne des *E. coli* EM3 et EM4 avec une réduction du pourcentage des cellules adhérentes de respectivement 1/100 et 1/10 comparativement au témoin.

- Le pourcentage d'adhésion d'*E. coli* EM4 a remarquablement diminué après le traitement préalable du verre par les deux désinfectants.
- Le traitement préalable du verre par l'hypochlorite de sodium à 10°C_{chl} a augmenté l'adhésion microbienne d'*E. coli* EM3 par 30% par rapport au témoin, alors que, cette concentration n'a pas modifié le pourcentage d'adhésion d'*E. coli* EM4.
- Le traitement du verre par une concentration élevée de peroxyde d'hydrogène (3%) a remarquablement défavorisé l'adhésion microbienne des souches des *E. coli* EM3 et EM4.

II. Adhésion microbienne des salmonelles sur le verre traité par les désinfectants

II.1. Adhésion après traitement du verre par l'hypochlorite de sodium

Dans la présente partie, nous avons étudié l'adhésion microbienne des salmonelles (*S. newport* et *S. kentucky*) au verre traité par l'hypochlorite de sodium à (0° ; 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°C_{chl}) pendant 15 min d'application. Les résultats des observations microscopiques et des quantifications de l'adhésion microbienne sont présentés dans les figures 55 et tableau 38.

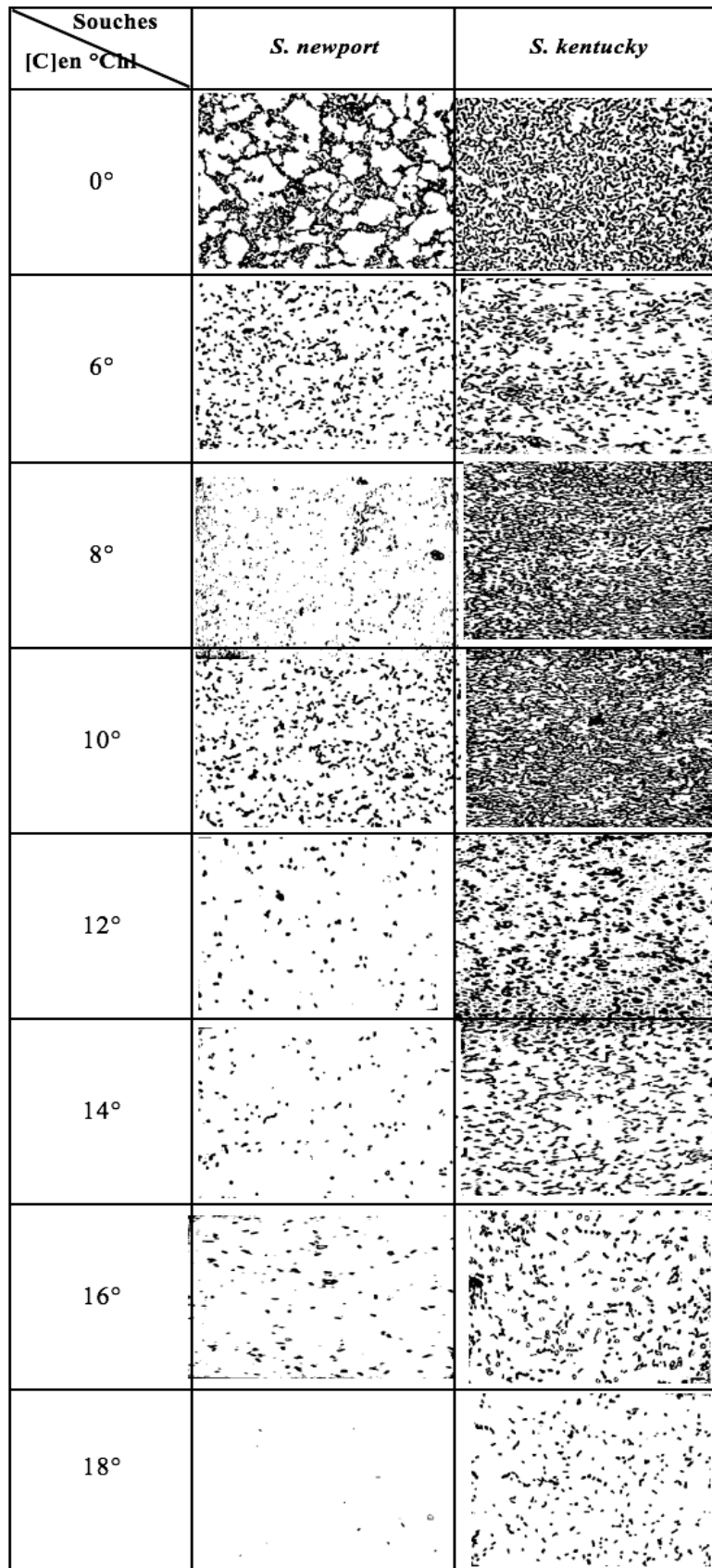


Figure 55 : Observations microscopiques des cellules adhérentes de *S. newport* et *S. kentucky* au verre traité par les concentrations (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl) de l'hypochlorite de sodium – grossissement (x400).

Tableau 37 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des souches *S. newport* and *S. kentucky* au verre après 15min d'application de différentes concentrations de l'hypochlorite de sodium à (6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18° Chl.

| Souches [C] en °Chl | Pourcentage des cellules adhérentes au verre (%) | |
|---------------------------|--|--------------------|
| | <i>S. newport</i> | <i>S. kentucky</i> |
| 0° | 65,2 | 70 |
| 6° | 30,3 | 42 |
| 8° | 18 | 77 |
| 10° | 31,8 | 80 |
| 12° | 6 | 45 |
| 14° | 5,3 | 23 |
| 16° | 6,2 | 25,5 |
| 18° | 0,3 | 12,5 |

Ces résultats nous ont permis de comparer la capacité d'adhésion des *S. newport* et *S. kentucky* au verre préalablement traité par l'hypochlorite de sodium (figure 56).

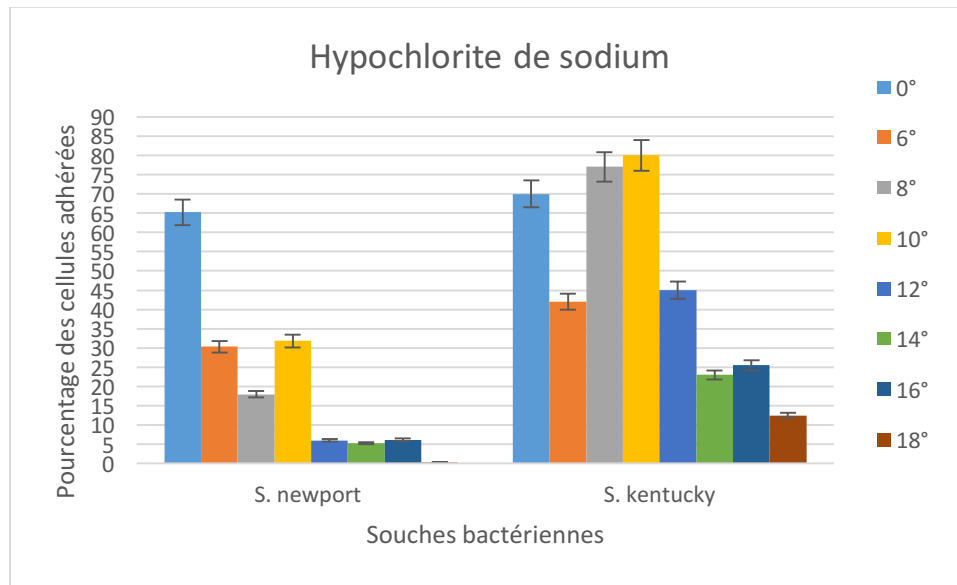


Figure 56 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérees de *S. newport* et *S. kentucky* au verre traité par différentes concentrations d'hypochlorite de sodium après 15 min d'application.

Les résultats des figures (55 et 56) et tableau 38, montrent que :

D'une façon générale, la réduction de l'adhésion microbienne de *S. kentucky*, au verre traité par l'hypochlorite de sodium, semble être moins importante que celle de *S. newport*.

Le traitement du verre par l'hypochlorite de sodium à toutes les concentrations étudiées a diminué le pourcentage des cellules adhérees de la souche de *S. newport* jusqu'à plus de 99% par rapport au témoin pour 18°Chl, soit une diminution au 1/100.

A l'exception de 8° et 10°Chl, tous les traitements préalables du verre par l'hypochlorite de sodium ont réduit le potentiel d'adhésion microbienne de *S. kentucky* jusqu'à 82% par rapport au témoin.

II.2. Adhésion après traitement du verre par le peroxyde d'hydrogène

Les résultats des observations des cellules *S. newport* et *S. kentucky* adhérees au verre traité par le peroxyde d'hydrogène aux concentrations (0,75% ; 1,5% et 3%) sont présentés dans les figures 57, 58 et le tableau 39.

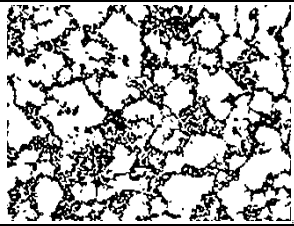
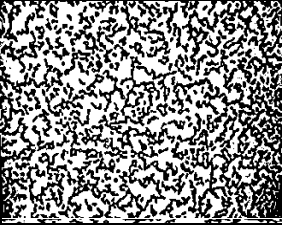
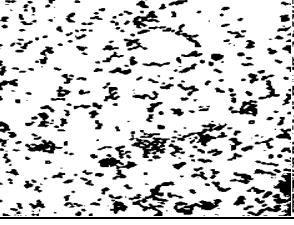
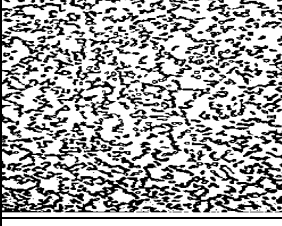
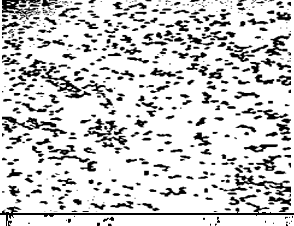
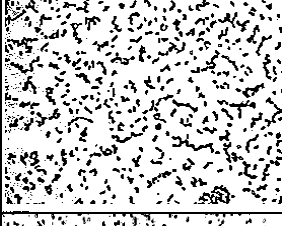
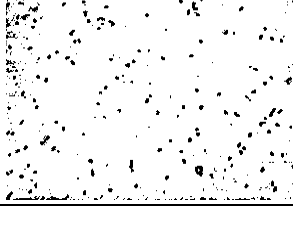
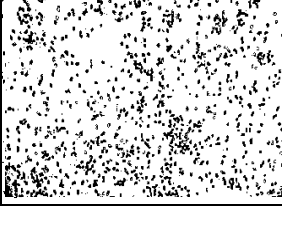
| Souches [C] en % | <i>S. newport</i> | <i>S. kentucky</i> |
|---------------------|---|--|
| 0% |  |  |
| 0,75% |  |  |
| 1,5% |  |  |
| 3% |  |  |

Figure 57 : Observations microscopiques des cellules adhérentes de *S. newport* et *S. kentucky* au verre traité par le peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%) après 15 mn d'application – grossissement (x400)

Tableau 38 : Pourcentage de la surface occupée par les cellules adhérentes des souches *S. newport* et *S. kentucky* sur le verre, traité pendant 15min d'application par le peroxyde d'hydrogène à (0,75% ; 1,5% et 3%).

| Pourcentage des cellules adhérentes au verre (%) | | |
|--|-------------------|--------------------|
| Souches [C] en % | <i>S. newport</i> | <i>S. kentucky</i> |
| 0% | 65 | 62 |
| 0,75% | 26 | 64 |
| 1,5% | 30 | 32 |
| 3% | 8,7 | 37 |

Ces résultats nous ont permis de comparer la capacité d'adhésion des salmonelles étudiés au verre préalablement traité par le peroxyde d'hydrogène (figure 58).

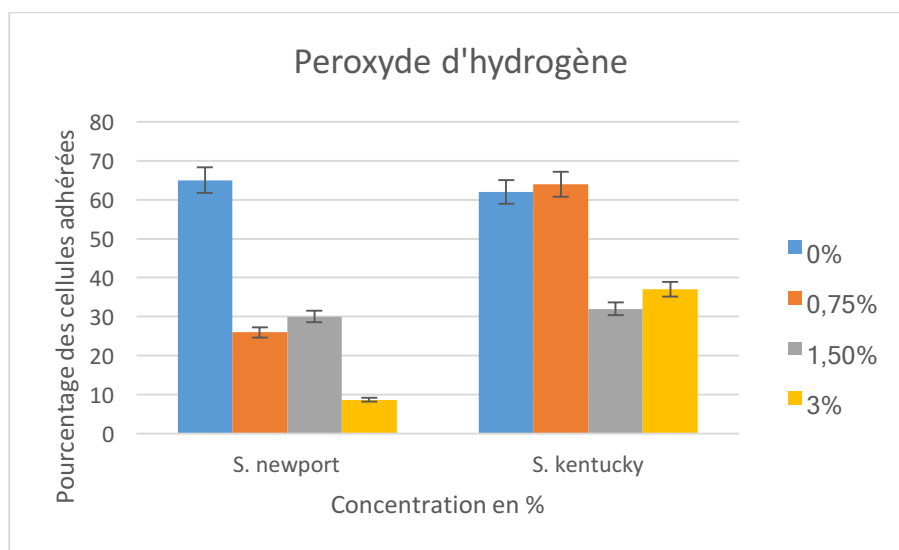


Figure 58 : Comparaison des pourcentages de cellules adhérentes de *S. newport* et *S. kentucky* au verre traité par différentes concentrations du peroxyde d'hydrogène après 15 min d'application.

D'après l'analyse des résultats (figure 58), nous constatons que la diminution du pourcentage des cellules adhérentes de *S. newport* sur le verre traité par le peroxyde d'hydrogène est élevée comparativement à celle de la souche *S. kentucky*.

Le traitement du verre par le peroxyde d'hydrogène a diminué la capacité d'adhésion de *S. newport* (soit une réduction jusqu'à 87% par rapport au témoin).

Les traitements du verre à des concentrations de 1,5% et 3% ont défavorisé l'adhésion microbienne de *S. kentucky* d'environ 50% par rapport au témoin.

- Les concentrations élevées d'hypochlorite de sodium ont remarquablement défavorisé l'adhésion microbienne des souches de *S. kentucky* et *S. newport* sur le verre (réduction jusqu'à 90% par rapport au témoin).
- Le traitement du verre par le peroxyde d'hydrogène a diminué la capacité d'adhésion de *S. newport* jusqu'à 87% par rapport au témoin et celle de *S. kentucky* jusqu'à 50%.
- La diminution du pourcentage des cellules adhérees de *S. newport* sur le verre traité par l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène, est élevée comparativement à celle de la souche *S. kentucky*.

III. Etude de la corrélation entre l'adhésion microbienne des *Escherichia coli* et des salmonelles et les propriétés physicochimiques de la surface du verre modifiée par la désinfection

Dans le but de vérifier la relation entre les caractéristiques physico-chimiques du verre modifié par les traitements de désinfection, nous avons effectué l'analyse de la corrélation multiple par SPSS v 20 entre les critères d'hydrophobicités, le caractère donneur/accepteur d'électrons du verre traité et le pourcentage des cellules adhérees.

III.1. Analyse de la régression entre le pourcentage des cellules adhérees et les propriétés physicochimiques du verre traité par l'hypochlorite de sodium

Le tableau 40 présente la matrice de corrélation entre les hydrophobicités qualitatives et quantitatives de surface (Θ_w , ΔG_{Twi}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) du verre traité et le pourcentage des cellules adhérees.

Tableau 39 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités qualitative et quantitative de surface (Θ_w , ΔG_{iwi}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérentes d'*E. coli* et des salmonelles à la surface du verre traité par l'hypochlorite de sodium

| | % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM3 | % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM4 | % d'adhésion de <i>S. newport</i> | % d'adhésion de <i>S. kentucky</i> |
|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM3 | 1 | | | |
| % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM4 | 0,535 | 1 | | |
| % d'adhésion de <i>S. newport</i> | 0,546 | 0,860 | 1 | |
| % d'adhésion de <i>S. kentucky</i> | 0,844 | 0,647 | 0,676 | 1 |
| Θ_w | 0,831 | 0,268 | 0,306 | 0,796 |
| γ^+ | 0,631 | 0,423 | 0,144 | 0,665 |
| γ^- | -0,837 | -0,218 | -0,067 | -0,687 |
| ΔG_{iwi} | 0,207 | 0,614 | 0,739 | 0,394 |

L'analyse de la corrélation multiple montre que :

Les souches d'*E. coli* EM3 et de *S. kentucky* présentent une corrélation importante entre l'hydrophobicité qualitative (Θ_w), les caractères donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et leurs pourcentages de cellules adhérentes au verre traité par l'hypochlorite de sodium.

Par contre, le pourcentage des cellules adhérentes de la *S. newport* et *E. coli* EM4 présentent une corrélation importante avec l'hydrophobicité quantitative (ΔG_{iwi}) du verre traité par l'hypochlorite de sodium.

Le coefficient de corrélation élevé entre le pourcentage d'adhésion des souches *E. coli* EM4 et *S. newport* ($r=0,860$) indique que ces souches ont la même tendance de variation sur les supports traités.

Pour la souche *S. kentucky*, les coefficients de corrélation indiquent que l'adhésion de cette souche a des similarités importantes avec toutes les souches étudiées.

En d'autre terme, la modification des propriétés physicochimiques de la surface traité influence l'adhésion des souches dans le même sens.

- L'augmentation du pourcentage des cellules adhérentes des *E. coli* EM3 et *S. kentucky* dépend fortement de l'augmentation de la valeur de l'hydrophobicité qualitative (Θ_w) et du caractère accepteur d'électrons (γ^+) du verre et inversement proportionnelle au caractère donneur d'électrons (γ^-).
- L'augmentation du pourcentage d'adhésion de *S. newport* et *E. coli* EM4 dépend fortement de l'augmentation de la valeur d'hydrophobicité quantitative (ΔG_{iwi}).

III.2. Analyse de la régression entre le pourcentage des cellules adhérees et les propriétés du verre traité par le peroxyde d'hydrogène

Les résultats de la matrice de corrélation entre les hydrophobicités qualitative et quantitative de surface (Θ_w , ΔG_{iwi}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérees à la surface du verre traité sont présentés dans le tableau 41.

Tableau 40 : Matrice de corrélation entre les hydrophobicités qualitative et quantitative de surface (Θ_w , ΔG_{iwi}), le caractère donneur/accepteur d'électrons (γ^+ , γ^-) et le pourcentage des cellules adhérees d'*E. coli* et des salmonelles à la surface du verre traité par le peroxyde d'hydrogène

| | % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM3 | % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM4 | % d'adhésion de <i>S. newport</i> | % d'adhésion de <i>S. kentucky</i> |
|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM3 | 1 | | | |
| % d'adhésion d' <i>E. coli</i> EM4 | ,591 | 1 | | |
| % d'adhésion de <i>S. newport</i> | ,598 | ,869 | 1 | |
| % d'adhésion de <i>S. kentucky</i> | ,592 | ,789 | ,415 | 1 |
| Θ_w | -,808 | -,936 | -,922 | -,695 |
| γ^+ | ,485 | -,402 | -,348 | -,063 |
| γ^- | ,163 | ,714 | ,888 | ,143 |
| ΔG_{iwi} | ,291 | ,732 | ,936 | ,158 |

L'analyse de la corrélation multiple montre que :

De façon générale, l'adhésion microbienne de toutes les souches d'*E. coli* et des salmonelles a une corrélation importante avec l'hydrophobicité qualitative (Θ_w) de la surface du verre traité par le peroxyde d'hydrogène

Les souches d'*E. coli* EM3 et de *S. kentucky* ont une corrélation importante entre l'hydrophobicité qualitative (Θ_w) et leurs pourcentages de cellules adhérees au verre traité par le peroxyde d'hydrogène.

Le pourcentage des cellules adhérees de la *S. newport* et *E. coli* EM4 ont une corrélation importante avec l'hydrophobicité qualitative (Θ_w), le caractère donneur d'électrons (γ^-) et l'hydrophobicité quantitative (ΔG_{iwi}) du verre traité par le peroxyde d'hydrogène

Le coefficient de corrélation élevé, entre le pourcentage d'adhésion des souches *E. coli* EM4 et *S. kentucky* et *S. newport*, indique que ces souches ont la même tendance de variation sur les supports traités.

- L'augmentation du pourcentage des cellules adhérentes de toutes les souches étudiées est très liée à la diminution de l'hydrophobicité qualitative (Θ_w) de la surface traitée par le peroxyde d'hydrogène.
- L'augmentation de l'adhésion microbienne des *E. coli* EM3 et *S. kentucky* est inversement proportionnelle à la valeur de l'hydrophobicité qualitative (Θ_w).
- L'augmentation du pourcentage d'adhésion de *S. newport* et *E. coli* EM4 dépend fortement de l'hydrophobicité qualitative (Θ_w), le caractère donneur d'électrons (γ^-) et l'hydrophobicité quantitative (ΔG_{iwi}).

Il est important de noter que les résultats de l'adhésion prédictive du chapitre précédent ont rapporté que la modification des propriétés physicochimiques de surface rendrait l'adhésion des *E. coli* EM3 et EM4 généralement favorable à faibles concentrations de 8°, 10°Chl de l'hypochlorite de sodium et à 0,75% et 1,5% du peroxyde d'hydrogène. L'adhésion des *S. newport* et *S. kentucky* devient favorable à 10°Chl d'hypochlorite de sodium.

L'approche théorique n'a pas pu totalement expliquer la prédiction de tous les cas obtenus par l'adhésion expérimentale sur le verre traité de ce chapitre. Il semblerait qu'il y ait d'autres facteurs qui pourraient intervenir dans ce processus et qui ne sont pas pris en compte dans l'approche théorique.

Bien que les propriétés physicochimiques de la surface contribuent sans aucun doute à la phase initiale de l'adhésion, plusieurs travaux ont rapporté l'absence d'une relation simple entre les propriétés de surface des matériaux, des cellules bactériennes et leurs processus d'adhésion. En effet, (Bos et al., 2000) ont conclu qu'une colonisation bactérienne se produit préférentiellement dans la zone hydrophile d'une interface hydrophile-hydrophobe de la surface de l'acier inoxydable. Aussi, (Bendinger et al., 1993) ont observé une adhésion préférentielle des cellules bactériennes aux surfaces plutôt hydrophiles (acier inoxydable, verre, etc.) qu'aux surfaces hydrophobes (caoutchouc Buna-N et autres matières plastiques). (Bryers, 1987) a montré que l'attachement des bactéries dépend de la tension de surface critique de la surface solide. Aussi, une énergie libre élevée et la présence d'eau promeuvent l'adhésion bactérienne (Boulangue-Petermann *et al.*, 1993). Par contre, Sinde & Carballo (2000) n'obtiennent aucune corrélation entre la quantité bactérienne adhérente et l'énergie libre de surface. (Flint et al., 1999), n'ont trouvé aucune relation statistiquement significative entre l'hydrophobicité et l'adhésion des souches de streptocoques thermo-tolérants.

Dans notre cas, nous avons trouvé que l'adhésion microbienne des *E. coli* et des salmonelles sur le verre modifié par les traitements de désinfection corrèle fortement avec les propriétés physicochimiques de la surface, notamment, l'hydrophobicité qualitative de surface (Θ_w). De plus, cette corrélation est positive dans le cas des *E. coli* et négative dans le cas des salmonelles. Ceci indique que la modification des propriétés de surface influence différemment la capacité d'adhésion des souches étudiées, ce qui peut s'expliquer par la

présence d'autres facteurs, liés aux microorganismes, qui conditionnent le potentiel d'adhérence.

A l'heure actuelle, malgré les différentes stratégies mises en œuvre, l'élimination systématique des bactéries sous forme adhérente aux surfaces, notamment en milieu industriel, s'avère difficile, du fait de la résistance accrue des cellules fixées et incluses dans une matrice d'exopolymères. Comme nous l'avons vu dans le chapitre IV, l'efficacité de la désinfection chimique, classiquement utilisée, semble être très limitée après la fixation des bactéries aux surfaces. Pour ce, une autre voie consiste à agir en amont afin de limiter la biocontamination des surfaces.

Des études permettant de modifier les propriétés physico-chimiques des supports pour limiter la fixation des germes indésirables (en favorisant le développement d'interactions physico-chimiques répulsives) commencent à émerger. Les modifications de surface peuvent être obtenues par des traitements physiques (traitement par plasma à arc rampant ; (Kamgang et al., 2005), biochimiques (conditionnement des supports par des bio-surfactants ; (Meylheuc et al., 2001); ou des protéines) ou biologiques (implantation de biofilms « positifs »). Dans ce dernier cas, outre la modification des propriétés de la surface des matériaux, la flore positive peut également avoir un rôle complémentaire en limitant la multiplication des cellules indésirables, jouant ainsi le rôle de flore barrière (concept d'écologie microbienne dirigée) (Briandet, 1999). Aussi, plusieurs voies de traitement aux agents naturels ont été proposées, parmi celles-ci le traitement de la surface par les extraits de plantes pour inhiber l'adhésion (Azelmad, 2018, Niu and Gilbert, 2004) et par conséquent la formation des biofilms. En outre, nous suggérons, à travers ce travail, que l'approche préventive basée sur les traitements préalables des supports par les désinfectants peut être une bonne alternative dans la réduction du risque de biocontamination. De plus, le suivi de modification de surface due à la désinfection et les conséquences sur l'adhésion microbienne est très important pour la validation de cette approche préventive.

Quelle que soit la stratégie choisie (méthode curative ou préventive), les phénomènes mis en jeu sont très complexes et très variables. Cette complexité offre encore aux microbiologistes de nombreuses pistes à explorer.

CONCLUSION

Dans ce travail, nous avons vérifié l'effet des modifications des propriétés physicochimiques de la surface des substrats par les désinfectants (l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène) sur l'adhésion microbienne des *E. coli* et des salmonelles. Nous nous sommes limités à l'utilisation du verre comme support modèle afin de réduire les variables dans notre étude.

L'analyse globale des résultats montrent que l'adhésion microbienne de ces souches sur le verre préalablement traité par les désinfectants dépend des propriétés physicochimiques de substrat et de la souche bactérienne.

En effet, nous avons démontré que les modifications des propriétés physicochimiques du verre traité par les deux désinfectants, à savoir l'hydrophobicité et les caractères donneurs et accepteurs d'électrons, engendrent une réduction de la capacité d'adhésion microbienne. Ainsi, le statut hygiénique du support relatif au potentiel adhésif est très significativement amélioré.

Par ailleurs, l'approche théorique n'a pas pu totalement prédire toutes les situations obtenues par l'approche expérimentale sur le verre traité de ce chapitre. D'autres facteurs intervenant dans ce processus ne seraient pas pris en compte dans l'approche théorique.

Même si, le paramètre de rugosité Ra a été choisi pour définir les exigences minimales pour la conception hygiénique des zones de contact avec les produits chimiques (Standard DIN (11480-B, 1992); EHEDG, 2004), à travers les résultats de ce travail, nous suggérons de considérer la stabilité des propriétés physicochimiques face à la désinfection comme des paramètres clés dans la définition des supports hygiéniques à utiliser en particulier dans les industries alimentaires.

Dans ce sens, nous recommandons aux unités de transformation alimentaire de mettre en place un plan de surveillance et de contrôle du vieillissement des supports dès leurs premières utilisations en contrôlant, non seulement la rugosité de surface, mais également la variation des propriétés physicochimiques. Ce contrôle de variation doit être combiné avec des tests d'adhésion sur les supports traités par les agents chimiques de nettoyage et désinfection.

En perspective, il serait nécessaire de vérifier ces résultats du modèle de verre sur les aciers inoxydables de notre étude (304, 304L, 316L) afin d'essayer de ressortir des recommandations pratiques et transférables aux industriels.

CONCLUSION GENERALE

ET PERSPECTIVES

La biocontamination des surfaces reste un problème d'actualité dans de nombreux secteurs d'application et en particulier dans les industries agro-alimentaires. Pour réduire ou éliminer les germes indésirables (bactéries pathogènes ou d'altération), des actions curatives basées sur l'utilisation d'agents antimicrobiens sont régulièrement pratiquées. Optimiser ces opérations, tout en préservant la qualité hygiénique, demeure donc un enjeu majeur pour les industriels. Cette optimisation passe, notamment, par tester l'efficacité des agents chimiques utilisés comme désinfectants, non seulement sur les cellules planctoniques, mais également sur l'état adhérent de ces cellules dont la résistance est plus importante.

Notre contribution dans ce travail a visé trois objectifs. Le premier, était la compréhension des mécanismes physico-chimiques et thermodynamiques régissant l'adhésion des microorganismes (*Escherichia coli*, salmonelles) isolées d'un environnement industriel sur les supports verre et des aciers inoxydables (304,304L et 316L) couramment rencontrés en industrie. L'objectif secondaire, était de mettre le point sur l'efficacité deux désinfectants, couramment utilisés en IAA, sur ces bactéries à l'état adhérent afin de mettre en cause les conditions opératoires de leurs usages au niveau industriel. Le troisième objectif était l'étude de l'effet de l'usage des désinfectants sur les surfaces du verre et des aciers inoxydables (304,304L et 316L) et toutes les conséquences éventuelles sur la capacité d'adhésion microbiennes de ces souches pathogènes.

Ce travail se compose de deux parties :

La première partie de cette étude a été consacré à la caractérisation physico-chimique de 12 *E. coli* et des 5 sérovars de salmonelles isolées d'environnements industriels, et aussi, les surfaces des substrats du verre et de trois aciers inoxydables 304 ; 304L ; 316L). A la lumière des résultats obtenus, nous avons trouvé que pour les douze *E. coli*, 42% des souches présentent un caractère hydrophobe et les autres souches (58%) sont généralement hydrophiles. En outre, les cinq souches des salmonelles (*S. muenster* ; *S. newport* ; *S. kentucky* ; *S. infantis* et *S. mbandaka*) ont un caractère hydrophile. De plus, à l'exception des souches d'*E. coli* (E11, 38) dont le caractère donneur d'électron (γ^-) est très faible, toutes les *E. coli* ont un caractère donneur d'électron (γ^-) élevé ou moyennement élevé. Les 5 sérovars de salmonelles sont principalement des donneurs d'électrons et généralement faiblement accepteurs d'électrons.

En addition, les critères des substrats du verre et des aciers inoxydables ont montré que le verre et l'acier 304L présentent un caractère relativement hydrophile et un caractère donneur d'électrons (γ^-) très important qu'accepteur d'électrons (γ^+). Cependant, les aciers 304 et 316L présentent un caractère hydrophobe et un caractère donneur d'électrons qu'accepteur d'électrons.

L'évaluation des propriétés des surfaces cellulaires et des substrats, nous a permis d'étudier le comportement adhésif par le biais de l'analyse prédictive. Ainsi, les résultats de l'adhésion prédictive ont montré que les supports à caractère hydrophile, notamment, le verre et l'acier inoxydable 304L, ne favoriseraient pas l'adhésion de toutes les souches de

salmonelle et plus que 80% des souches des *E. coli* étudiées. Cependant, les supports à caractère hydrophobe, notamment, les aciers inoxydables 304 et 316L, semblent être plus favorables à l'adhésion microbienne d'*E. coli* et des salmonelles.

L'étude de l'adhésion expérimentale d'un nombre considérable de souches d'*E. coli* et de salmonelles sur le verre, nous a permis de constater à quel niveau ce phénomène est variable et dépendant des conditions environnantes. En effet, l'augmentation de la force ionique conduit à une augmentation du pourcentage des cellules adhérees des *E. coli* sur le verre quel que soit le temps de contact (3h, 18h). Contrairement à l'*E. coli* étudiées, l'adhésion de toutes les salmonelles étudiées sur le verre est très favorisée à une faible force ionique 0,001M. Par ailleurs, le temps de contact exerce un effet marquant sur l'adhésion des souches étudiées en augmentant le pourcentage des cellules adhérees. En addition, à faible force ionique, les cellules adhérees des souches *S. newport* et *S. kentucky* sont sous forme d'agrégats sur le support du verre à 3h et 18h. Aussi, ce phénomène est révélé chez *E. coli* (EM3, EM4 et EI3) notamment à forte force ionique et 18h d'adhésion.

Par ailleurs, l'analyse de la régression multiple entre tous les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire des *E. coli* et leurs pourcentages d'adhésion sur le verre à deux forces ioniques a montré qu'à (3h, 10^{-1} M), le pouvoir d'adhésion des *E. coli*, à caractère hydrophobe, a une forte corrélation avec l'hydrophobicités qualitative, l'hydrophobicité quantitative, la composante de Van der Waals (γ^{LW}) et le caractère donneurs d'électron (γ^-) de la surface cellulaire. Par ailleurs, l'adhésion des *E. coli*, à caractère hydrophile, ont montré une corrélation importante avec leurs composantes de Van der Waals (γ^{LW}) après 3h et 18h de temps d'adhésion.

En addition, le pourcentage d'adhésion de toutes les *E. coli* étudiées à faible force ionique n'a montré aucune corrélation significative avec les paramètres physico-chimiques des surfaces bactériennes.

Par ailleurs, pour tous les temps d'adhésion, le caractère hydrophobe et les faibles valeurs du caractère donneur d'électron (γ^-) de *S. kentucky* et *S. newport* augmentent fortement leur adhésion sur le verre à faible force ionique.

Dans la deuxième partie, nous avons procédé à l'évaluation de l'efficacité de deux désinfectants les plus utilisés en IAA, l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène, sur les souches des *E. coli* et salmonelles à l'état adhéree sur une surface inerte (verre). Nous avons étudié les concentrations d'hypochlorite de sodium (6°, 8°, 10°, 12°, 14°, 16° et 18°Chl) et du peroxyde d'hydrogène (0,75%, 1,5%, 3%) aux différents temps d'application (3min, 5min, 10 min, 15min). L'efficacité de la désinfection par ces deux désinfectants est très dépendante des concentrations de traitement et du temps d'application. En effet, les protocoles de désinfection par l'hypochlorite de sodium (12°Chl ; 15min) et (14°Chl ; 15min) et les protocoles de désinfection par le peroxyde d'hydrogène (3% ; 5min), (3% ; 10min), (3% ; 15min) sont les plus efficaces sur l'adhésion microbienne de toutes les souches d'*E. coli* et les sérovars de salmonelles étudiés.

De manière générale, le peroxyde d'hydrogène réduit fortement le pourcentage des cellules adhérees des souches étudiées comparativement avec l'hypochlorite de sodium. Aussi, les sérovars de salmonelles sont plus résistants à la désinfection que les souches des *E. coli*.

Par ailleurs, l'analyse de la régression entre le pourcentage des cellules adhérees des souches étudiées et la série des concentrations étudiées de l'hypochlorite de sodium a montré une forte corrélation polynomiale d'ordre 2 ($y=ax^2+bx+c$) importante pour tous les temps de traitements. Ceci indique, que généralement, l'utilisation des concentrations faibles ou élevées de ce désinfectant n'est pas efficace sur les cellules adhérees des souches étudiées comparativement aux moyennes concentrations.

Ainsi, l'efficacité de la désinfection par l'hypochlorite de sodium et le peroxyde d'hydrogène est très dépendante de la concentration et du temps d'application des désinfectants, mais également de l'état initial de contamination des surfaces (pourcentage des cellules adhérees) et de la nature des souches adhérees.

Les protocoles d'utilisation des désinfectants doivent impérativement tenir en considération les souches microbiennes cibles et l'état adhéree aux surfaces. Les difficultés d'élimination des biofilms microbiologiques des surfaces solides sont principalement dues à la méconnaissance des caractéristiques déterminant la résistance des microorganismes. Il en résulte que les désinfectants couramment disponibles ne conviennent pas à l'inactivation des cellules adhérees en utilisant les mêmes conditions d'application quel que soit la nature et l'état des souches microbiennes.

Par la suite, nous avons étudié l'effet des traitements de désinfection sur les propriétés des surfaces (propriétés physico-chimiques et rugosités) du verre et des aciers inoxydables (304, 304L, 316L). Les traitements de surfaces par les deux désinfectants n'ont pas modifié la rugosité de surface (R_a). Les propriétés physicochimiques de surface sont très variables en fonction des traitements appliqués. En effet, l'augmentation de la concentration du traitement du verre, par de l'hypochlorite de sodium (de 6° jusqu'à 12°chl) et le peroxyde d'hydrogène (de 0,75% à 3%), a augmenté nettement l'hydrophobicité de surface. Le traitement de l'acier 304L, par l'hypochlorite de sodium (jusqu'à 12°Chl) et le peroxyde d'hydrogène (jusqu'à 1,5%) a remarquablement augmenté l'hydrophobicité de surface. De plus, le traitement de l'acier 304 et l'acier 316L par le peroxyde d'hydrogène et par les concentrations élevées de l'hypochlorite de sodium a remarquablement diminué leurs hydrophobicités de surface. Par ailleurs, les propriétés donneur et accepteur d'électrons des supports étudiés sont très instables vis à vis les traitements.

La prévision de l'adhésion microbienne sur le verre et les aciers inoxydables, après traitement par les désinfectants, permettrait de nous informer sur le potentiel de contamination sur une surface inerte. Ainsi, le traitement de tous les supports par de l'hypochlorite de sodium à des concentrations moyennes favoriserait l'adhésion des *E. coli* et des salmonelles. Le

traitement des supports par des concentrations élevées des deux désinfectants défavoriserait, généralement, l'adhésion microbienne de toutes les souches étudiées. En addition, le traitement de tous les supports par le peroxyde d'hydrogène défavoriserait nettement l'adhésion microbienne des souches étudiées comparativement avec l'hypochlorite de sodium. Après traitement des supports par l'hypochlorite de sodium, l'acier 316L deviendrait le support le plus hygiénique par rapport à l'adhésion de toutes les souches étudiées, cependant, le traitement des surfaces par le peroxyde d'hydrogène rendrait l'acier 304 le support le plus hygiénique.

L'étude de l'adhésion expérimentale des souches *d'E. coli* (EM3, EM4) et de salmonelles (*S. newport* et *S. kentucky*) sur le verre traité par les deux désinfectants à différentes concentrations et un temps d'application (15min), nous a permis d'évaluer l'influence des modifications des propriétés physicochimiques sur leurs potentiels adhésifs. Ainsi, un traitement préalable du verre par des concentrations élevées en hypochlorite de sodium (16°, 18°Chl) et en peroxyde d'hydrogène (3%) diminue remarquablement la capacité d'adhésion des souches étudiées.

Par ailleurs, l'adhésion théorique n'a pas pu totalement prédire l'adhésion microbienne de souches étudiées dans l'ensemble des conditions expérimentales. Ceci peut être dû à l'implication des autres facteurs dans le phénomène d'adhésion qui ne sont pas prise dans l'approche théorique.

De plus, l'étude de la régression entre les propriétés physicochimiques de la surface du verre traité par les désinfectants et le pourcentage des cellules adhérees a révélé l'existence d'une corrélation importante entre le pourcentage des cellules adhérees des *E. coli* et des salmonelles sur le verre traité et les propriétés physicochimiques modifiées par les désinfectants. En effet, le pourcentage des cellules adhérees de toutes les souches étudiées est fortement proportionnel avec l'hydrophobicité qualitative (Θ_w) de la surface traitée par le peroxyde d'hydrogène.

Dans l'ensemble, le travail réalisé permet de dresser des conclusions importantes venant enrichir les connaissances actuelles d'abord sur le phénomène de l'adhésion des souches d'environnement industriel sur les supports utilisés en contact des aliments en agro-industrie, puis, évaluer et valider la résistance des cellules adhérees aux produits de désinfection appliqués en milieu industriel et enfin, étudier l'effet des traitements de désinfection sur les caractéristiques des surfaces des aciers inoxydables, et par conséquence, évaluer l'effet de l'instabilité des propriétés physicochimiques des surfaces sur le potentiel adhésif des souches des *E. coli* et des salmonelles.

Un certain nombre de perspectives sont donc envisageables à l'issue de ce travail, tant pour la compréhension de différents phénomènes fondamentaux que du point de vue de l'application directe. Ainsi, nous proposons,

- Etudier la formation des biofilms pluri-microbiens à la surface des supports des aciers inoxydables.
- Evaluer l'efficacité des produits de désinfection sur les biofilms pluri-microbiens.
- Approfondir la caractérisation des supports traités par les produits de désinfection et afin de déterminer tous les changements au niveau de la structure de surfaces.
- Etudier l'adhésion expérimentale sur les différents supports des aciers inoxydables préalablement traités par les désinfectants
- Extrapoler les résultats du laboratoire à l'échelle industrielle et étudier l'applicabilité des résultats dans les conditions industrielles.

Recommandations et Applications industrielles :

- 1) Au vu des résultats de ces travaux, nous recommandons aux unités de transformation alimentaire d'intégrer dans le plan de surveillance un contrôle du vieillissement des supports dès leurs première utilisations en suivant, non seulement la rugosité de surface, mais également la variation des propriétés physicochimiques des surfaces des équipements en contact d'aliment. Ce contrôle de variation doit être combiné avec des tests d'adhésion (biocontamination) sur les supports traités par les agents chimiques de nettoyage et désinfection.
- 2) En plus des facteurs, du coût, de la corrosivité, et de la forme et conditions de stockage régissant le choix du désinfectant, le type des microorganismes ciblés à l'état adhérent doit faire l'objet du contrôle régulier de l'efficacité du désinfectant adopté.
- 3) La conception hygiénique des équipements industriels doit tenir en considération le statut hygiénique des aciers utilisés. L'évaluation du statut hygiénique ne doit pas être limitée sur les caractéristiques topographiques de surface, à savoir la rugosité Ra, mais doit obligatoirement tenir en considération les propriétés physicochimiques et leurs aptitudes à la bio-adhésion.
- 4) Les indicateurs d'hygiène tels que *E. coli* semblent être insuffisants pour refléter a biocontamination réelle et l'état hygiénique des surfaces inertes ; la recherche de salmonelles adhérentes sur les supports est recommandée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 4287:1997, I. S. O. I. 1997. Spécification géométrique des produits (GPS) -- État de surface: Méthode du profil -- Termes, définitions et paramètres d'état de surface. In: ISO (ed.) *ISO 4287:1997*
- 11480-B, D. 1992. Dairy machines ; tanks and apparatus; surfaces, L'Institut allemand de normalisation, Beuth Verlag, Berlin, Koln.
- 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, 453-472.
- ABSLOM, D. R., LAMBERTI, F. V., POLICOVA, Z., ZINGG, W., VAN OSS, C. J. & NEUMANN, A. W. 1983. Surface thermodynamics of bacterial adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 90-97.
- AFNOR 1989. NF T 72-300 : Détermination de l'efficacité des produits sur divers microorganismes dans les conditions pratiques d'emploi. .
- AFNOR 1999. Recueil de normes et réglementations : antiseptiques et désinfectants . AFNOR ed., Paris.
- AGUILAR-USCANGA, B. & FRANCOIS, J. 2003. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Letters in applied microbiology*, 37, 268-274.
- ALLION, A. 2004. *Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides: mise au point d'une technique rapide pour déterminer in situ l'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens*. ENSIA (AgroParisTech).
- ALLISON, D. G. & SUTHERLAND, I. W. 1987. The role of exopolysaccharides in adhesion of freshwater bacteria. *Microbiology*, 133, 1319-1327.
- AMORY, D., MOZES, N., HERMESSE, M., LEONARD, A. & ROUXHET, P. 1988. Chemical analysis of the surface of microorganisms by X-ray photoelectron spectroscopy. *FEMS microbiology letters*, 49, 107-110.
- ANWAR, H., DASGUPTA, M. & COSTERTON, J. 1990. Testing the susceptibility of bacteria in biofilms to antibacterial agents. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34, 2043.
- ANWAR, H., STRAP, J. & COSTERTON, J. 1992. Eradication of biofilm cells of *Staphylococcus aureus* with tobramycin and cephalexin. *Canadian journal of microbiology*, 38, 618-625.
- ASTHER, M., BELLON-FONTAINE, M. N., CAPDEVILA, C. & CORRIEU, G. 1990. A thermodynamic model to predict *Phanerochaete chrysosporium* INA-12 adhesion to various solid carriers in relation to lignin peroxidase production. *Biotechnology and bioengineering*, 35, 477-482.
- AZELMAD, K. 2018. *Etude de l'adhésion bactérienne sur les matériaux utilisés en restauration collective et l'effet antiadhésif d'extraits de plantes*. Université Ibn Zohr, Agadir.
- AZELMAD, K., HAMADI, F., MIMOUNI, R., AMZIL, K. & LATRACHE, H. 2018. Physicochemical characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from catering substratum surface and investigation of their theoretical adhesion. *Surfaces and Interfaces*, 12, 26-30.
- AZELMAD, K., HAMADI, F., MIMOUNI, R., AMZIL, K., LATRACHE, H., MABROUKI, M. & EL BOULANI, A. 2017. Adhesion of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus xylosum* to materials commonly found in catering and domestic kitchens. *Food control*, 73, 156-163.
- BAGGE-RAVN, D., NG, Y., HJELM, M., CHRISTIANSEN, J. N., JOHANSEN, C. & GRAM, L. 2003. The microbial ecology of processing equipment in different fish industries—analysis of the microflora during processing and following cleaning and disinfection. *International journal of food microbiology*, 87, 239-250.
- BAIER, R. E. 1970. Surface properties influencing biological adhesion. *Adhesion in biological systems*, 15-48.

- BAKKE, R., TRULEAR, M. G., ROBINSON, J. & CHARACKLIS, W. G. 1984. Activity of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms: steady state. *Biotechnology and bioengineering*, 26, 1418-1424.
- BARNES, L.-M., LO, M., ADAMS, M. & CHAMBERLAIN, A. 1999. Effect of milk proteins on adhesion of bacteria to stainless steel surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 4543-4548.
- BARTOLI, M. & DUSSEAU, J. 1995. Aldéhydes. *Antiseptie et Désinfection*, 292-304.
- BAYOUDH, S., OTHMANE, A., BETTAIEB, F., BAKHROUF, A., OUADA, H. B. & PONSONNET, L. 2006. Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Materials Science and Engineering: C*, 26, 300-305.
- BELLON-FONTAINE, M. & VERNHET, A. 1999. Adhésion de particules et de microorganismes aux surfaces solides. *Nettoyage, désinfection et hygiène dans les bioindustries. Niveau J.-Y. and Bouix M*, 25.
- BELLON-FONTAINE, M.-N. & CERF, O. 1991. Mécanismes d'adhésion des micro-organismes aux surfaces: facteurs influant sur l'adhésion. *Industries alimentaires et agricoles*, 108, 13-17.
- BELLON-FONTAINE, M.-N., MOZES, N., VAN DER MEI, H., SJOLLEMA, J., CERF, O., ROUXHET, P. & BUSSCHER, H. 1990. A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell Biophysics*, 17, 93.
- BENDINGER, B., RIJNAARTS, H. H., ALTENDORF, K. & ZEHNDER, A. J. 1993. Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 3973-3977.
- BENGOURRAM, J., HAMADI, F., MABROUKI, M., KOUIDER, N., ZEKRAOUI, M., ELLOUALI, M. & LATRACHE, H. 2009. Relationship between roughness and physicochemical properties of glass surface and theoretical adhesion of bacterial cells. *Phys Chem News*, 47, 138-144.
- BERG, J. D., MATIN, A. & ROBERTS, P. 1982. Effect of antecedent growth conditions on sensitivity of *Escherichia coli* to chlorine dioxide. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 814-819.
- BESSEMS, E. 1998. The effect of practical conditions on the efficacy of disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41, 177-183.
- BEUMER, R., BLOOMFIELD, S. F., EXNER, M., FARA, G. M., NATH, K. J. & SCOTT, E. 2000. Microbial resistance and biocides. International Scientific Forum on Home Hygiene (IFH), 2000.
- BITTON, G., PANCORBO, O. & GIFFORD, G. 1976. Factors affecting the adsorption of polio virus to magnetite in water and wastewater. *Water Research*, 10, 973-980.
- BOHINC, K., DRAŽIĆ, G., ABRAM, A., JEVŠNIK, M., JERŠEK, B., NIPIČ, D., KURINČIČ, M. & RASPOR, P. 2016. Metal surface characteristics dictate bacterial adhesion capacity. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 68, 39-46.
- BOHINC, K., DRAŽIĆ, G., ODER, M., JEVŠNIK, M., NIPIČ, D., GODIČ-TORKAR, K. & RASPOR, P. 2014. Available surface dictates microbial adhesion capacity. *International journal of adhesion and adhesives*, 50, 265-272.
- BOONAERT, C. J. & ROUXHET, P. G. 2000. Surface of lactic acid bacteria: relationships between chemical composition and physicochemical properties. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 2548-2554.
- BOS, R., VAN DER MEI, H., GOLD, J. & BUSSCHER, H. 2000. Retention of bacteria on a substratum surface with micro-patterned hydrophobicity. *FEMS microbiology letters*, 189, 311-315.
- 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.
- BOULANÉ-PETERMANN, L. 1996. Processes of bioadhesion on stainless steel surfaces and cleanability: a review with special reference to the food industry. *Biofouling*, 10, 275-300.
- BOULANGE-PETERMANN, L., BAROUX, B. & BELLON-FONTAINE, M.-N. 1993. The influence of metallic surface wettability on bacterial adhesion. *Journal of adhesion science and technology*, 7, 221-230.
- BOULANGE-PETERMANN, L., BAROUX, B. & BELLON-FONTAINE, M.-N. 1994. Mécanismes d'adhésion des micro-organismes aux surfaces métalliques: nettoyabilité des surfaces d'acier inoxydable. *Industries alimentaires et agricoles*, 111, 671-676.

- 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.
- BOURION, F. & CERF, O. 1996. Disinfection efficacy against pure-culture and mixed-population biofilms of *Listeria innocua* and *Pseudomonas aeruginosa* on stainless steel, Teflon and rubber. *Sciences des Aliments (France)*.
- BRADSHAW, D., MARSH, P., WATSON, G. & ALLISON, C. 1997. Effect of conditioning films on oral microbial biofilm development. *Biofouling*, 11, 217-226.
- BREMER, P. J., FILLERY, S. & MCQUILLAN, A. J. 2006. Laboratory scale Clean-In-Place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms. *International journal of food microbiology*, 106, 254-262.
- BRIANDET, R. 1999. *Maitrise de l'hygiene des surfaces par la creation de biofilms-aspects physico-chimiques*. Rennes, Agrocampus Ouest.
- BRIANDET, R., HERRY, J.-M. & BELLON-FONTAINE, M.-N. 2001. Determination of the van der Waals, electron donor and electron acceptor surface tension components of static Gram-positive microbial biofilms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 21, 299-310.
- BRIANDET, R., LERICHE, V., CARPENTIER, B. & BELLON-FONTAINE, M.-N. 1999a. Effects of the growth procedure on the surface hydrophobicity of *Listeria monocytogenes* cells and their adhesion to stainless steel. *Journal of food protection*, 62, 994-998.
- BRIANDET, R., MEYLHEUC, T., MAHER, C. & BELLON-FONTAINE, M. N. 1999b. *Listeria monocytogenes* Scott A: cell surface charge, hydrophobicity, and electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 5328-5333.
- BROWN, M. R., ALLISON, D. G. & GILBERT, P. 1988. Resistance of bacterial biofilms to antibiotics a growth-rate related effect? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 22, 777-780.
- BRUINSMA, G. M., RUSTEMA-ABBING, M., VAN DER MEI, H. C. & BUSSCHER, H. J. 2001. Effects of cell surface damage on surface properties and adhesion of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiological Methods*, 45, 95-101.
- BRYERS, J. D. 1987. Biologically active surfaces: processes governing the formation and persistence of biofilms. *Biotechnology Progress*, 3, 57-68.
- BRYERS, J. D. & RATNER, B. D. 2004. Bioinspired implant materials befuddle bacteria. *ASM News-American Society for Microbiology*, 70, 232-232.
- BUNT, C. R., JONES, D. S. & TUCKER, I. G. 1995. The effects of pH, ionic strength and polyvalent ions on the cell surface hydrophobicity of *Escherichia coli* evaluated by the BATH and HIC methods. *International journal of pharmaceuticals*, 113, 257-261.
- BUSSCHER, H., HANDLEY, P., BOS, R. & VAN DER MEI, H. 1999. Physico-chemistry of microbial adhesion from an overall approach to the limits. *Physical Chemistry of Biological Interfaces*, 431-445.
- BUSSCHER, H. J., VAN HOOGMOED, C., GEERTSEMA-DOORNBUSCH, G. I., VAN DER KUIJL-BOOIJ, M. & VAN DER MEI, H. 1997. *Streptococcus thermophilus* and its biosurfactants inhibit adhesion by *Candida* spp. on silicone rubber. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 3810-3817.
- BUSSCHER, H. J. & WEERKAMP, A. H. 1987. Specific and non-specific interactions in bacterial adhesion to solid substrata. *FEMS Microbiology Reviews*, 3, 165-173.
- BUSSCHER, H. J., WEERKAMP, A. H., VAN DER MEI, H. C., VAN PELT, A., DE JONG, H. P. & ARENDS, J. 1984. Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 980-983.
- BYSTRÖM, A. & SUNDQVIST, G. 1983. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 55, 307-312.
- CARBALLO, J., FERREIROS, C. & CRIADO, M. 1992. Factor analysis in the evaluation of the relationship between bacterial adherence to biomaterials and changes in free energy. *Journal of biomaterials applications*, 7, 130-141.
- CARLIER, V., ROZIER, J. & BOLNOT, F. 1985. Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. *Ed. Sepale, Paris*.

- CARPENTIER, B. & CERF, O. 1993. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of applied bacteriology*, 75, 499-511.
- CHAMBERLAIN, A. & JOHAL, S. 1988. Biofilms on meat processing surfaces. *Biodeterioration* 7. Springer.
- CHAPMAN, J. S. 2003. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. *International biodeterioration & biodegradation*, 51, 271-276.
- CHARACKLIS, W. G. 1990. A basis for an interdisciplinary approach. *Biofilms*, 3-16.
- CHEN, J., ROSSMAN, M. L. & PAWAR, D. M. 2007. Attachment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* to the surface of beef and a culture medium. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 249-254.
- CHMIELEWSKI, R. & FRANK, J. 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2, 22-32.
- CLARKSON, R. M. & MOULE, A. J. 1998. Sodium hypochlorite and its use as an endodontic irrigant. *Australian dental journal*, 43, 250-256.
- CLOETE, T. E. 2003. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 277-282.
- COQUET, L., COSETTE, P., JUNTER, G.-A., BEUCHER, E., SAITER, J.-M. & JOUENNE, T. 2002. Adhesion of *Yersinia ruckeri* to fish farm materials: influence of cell and material surface properties. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 26, 373-378.
- COSTERTON, J., LAMBE JR, D., MAYBERRY-CARSON, K.-J. & TOBER-MEYER, B. 1987. Cell wall alterations in staphylococci growing in situ in experimental osteomyelitis. *Canadian journal of microbiology*, 33, 142-150.
- COSTERTON, J. W., GEESEY, G. & CHENG, K. 1978. How bacteria stick. *Sci Am*, 238, 86-95.
- COSTERTON, J. W., LEWANDOWSKI, Z., DEBEER, D., CALDWELL, D., KORBER, D. & JAMES, G. 1994. Biofilms, the customized microniche. *Journal of bacteriology*, 176, 2137.
- COSTERTON, J. W., MARRIE, T. J. & CHENG, K.-J. 1985. Phenomena of bacterial adhesion. *Bacterial adhesion*. Springer.
- COWAN, M., VAN DER MEI, H., ROUXHET, P. & BUSSCHER, H. 1992. Physico-chemical and structural properties of the surfaces of *Peptostreptococcus micros* and *Streptococcus mitis* as compared to those of mutants streptococci, *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus salivarius*. *Microbiology*, 138, 2707-2714.
- CREMIEUX, A. & FRENEY, J. 1995. Mécanismes d'action sur les bactéries et les champignons. *Antiseptie et désinfection. ESKA*, 23-35.
- CUPERUS, P. L., VAN DER MEI, H. C., REID, G., BRUCE, A. W., KHOURY, A. H., ROUXHET, P. G. & BUSSCHER, H. J. 1993. Physicochemical surface characteristics of urogenital and poultry lactobacilli. *Journal of colloid and interface science*, 156, 319-324.
- CZACZYK, K. 2004. Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. *Postępy Mikrobiologii*, 43, 267-283.
- CZECHOWSKI, M. & BANNER, M. 1992. Control of biofilms in breweries through cleaning and sanitizing. *Technical quarterly-Master Brewers Association of the Americas (USA)*.
- DANIELS, R., VANDERLEYDEN, J. & MICHIELS, J. 2004. Quorum sensing and swarming migration in bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 28, 261-289.
- DANKERT, J. 1986. Biomedical polymers: bacterial adhesion, colonization and infection. *CRC Crit Rev Biocompat*, 2, 219-301.
- DAVIES, D. G., PARSEK, M. R., PEARSON, J. P., IGLEWSKI, B. H., COSTERTON, J. W. & GREENBERG, E. P. 1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 280, 295-298.
- DAVIS, J. 1994. Surface engineering of stainless steels. *J. R. Davis, ASM Handbook*, 5.
- DEBOLD, T. 1988. PASSIVATION OF STAINLESS STEEL PARTS, A CRUCIAL STEP IN MAXIMIZING CORROSION RESISTANCE. *T. DeBold, Tappi J.*, 71.
- DEBYE, P. 1920. Die van der Waalsschen Kohäsion-skraft. *Phys. Zs.*, 21, 178-187.
- DECHO, A. W. 1999. Chemical communication within microbial biofilms: chemotaxis and quorum sensing in bacterial cells. *Microbial extracellular polymeric substances*. Springer.
- DENGIS, P. B. & ROUXHET, P. G. 1997. Surface properties of top-and bottom-fermenting yeast. *Yeast*, 13, 931-943.

- DENYER, S. P. & STEWART, G. 1998. Mechanisms of action of disinfectants. *International biodeterioration & biodegradation*, 41, 261-268.
- DERJAGUIN, B. & LANDAU, L. 1941. The theory of stability of highly charged lyophobic sols and coalescence of highly charged particles in electrolyte solutions. *Acta Physicochim. URSS*, 14, 58.
- DEWANTI, R. & WONG, A. C. 1995. Influence of culture conditions on biofilm formation by *Escherichia coli* O157: H7. *International journal of food microbiology*, 26, 147-164.
- DICKSON, J. S. & KOOHMARAIE, M. 1989. Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 832-836.
- DILLMAN JR, W. J. & MILLER, I. F. 1973. On the adsorption of serum proteins on polymer membrane surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 44, 221-241.
- DONLAN, R. M. & COSTERTON, J. W. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15, 167-193.
- DUFRENE, Y. F., BOONAERT, C. J.-P. & ROUXHET, P. G. 1996. Adhesion of *Azospirillum brasilense*: role of proteins at the cell-support interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 7, 113-128.
- DUFRENE, Y. F., VAN DER WAL, A., NORDE, W. & ROUXHET, P. G. 1997. X-ray photoelectron spectroscopy analysis of whole cells and isolated cell walls of gram-positive bacteria: comparison with biochemical analysis. *Journal of Bacteriology*, 179, 1023-1028.
- DUGUID, J., ANDERSON, E. & CAMPBELL, I. 1966. Fimbriae and adhesive properties in *Salmonellae*. *The Journal of pathology and bacteriology*, 92, 107-137.
- DUPRÉ, A. & DUPRÉ, P. 1869. *Théorie mécanique de la chaleur*, Gauthier-Villars. Paris.
- EBERHARD, A., BURLINGAME, A., EBERHARD, C., KENYON, G., NEALSON, K. & OPPENHEIMER, N. 1981. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. *Biochemistry*, 20, 2444-2449.
- EGINTON, P., HOLAH, J., ALLISON, D., HANDLEY, P. & GILBERT, P. 1998. Changes in the strength of attachment of micro-organisms to surfaces following treatment with disinfectants and cleansing agents. *Letters in Applied Microbiology*, 27, 101-105.
- EHEDG, E. H. E. D. G.-. 1993. Welding stainless steel to meet hygienic requirements. *Trends Food Sci. Technol.* 4, 306-310.
- EHEDG, E. H. E. D. G.-. 2004. Doc. 8, Critères de conception hygiénique des équipements, 2^{ème} édition.
- EIDE, M., HOMLEID, J. & MATTSSON, B. 2003. Life cycle assessment (LCA) of cleaning-in-place processes in dairies. *LWT-Food Science and Technology*, 36, 303-314.
- EL ABED, S. 2012. *Etude du mécanisme de l'adhésion des micro-organismes (bactéries et champignons) au bois de cèdre et stratégie innovante pour sa préservation*. université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès.
- EL ABED, S., HAMADI, F., LATRACHE, H., IRAQUI, H. M. & IBNSOUDA, K. S. 2010. Adhesion of *Aspergillus niger* and *Penicillium expansum* spores on Fez cedar wood substrata. *Annals of microbiology*, 60, 377-382.
- EL ABED, S., HOUARI, A., LATRACHE, H., REMMAL, A. & KORAICHI, S. I. 2011. In vitro activity of four common essential oil components against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Research Journal of Microbiology*, 6, 394.
- EL ABED S., M. M., BERGUADI F, LATRACHE H, HOUARI A, HAMADI F, IBNSOUDA KS 2011. Study of microbial adhesion on some wood species: Theoretical prediction. *Microbiology* 80:43-49. *Microbiology*, 43-49.
- EL, A. G., LATRACHE, H., HAMADI, F., EL, M. L., EL, A. B., HAKKOU, A. & BOURLIOUX, P. 2002. Influence of surface cell structures on physicochemical properties of *Escherichia coli*. *The new microbiologica*, 25, 173-178.
- ENEROTH, Å., CHRISTIANSSON, A., BRENDEHAUG, J. & MOLIN, G. 1998. Critical contamination sites in the production line of pasteurised milk, with reference to the psychrotrophic spoilage flora. *International Dairy Journal*, 8, 829-834.

- EVANS, D., ALLISON, D., BROWN, M. & GILBERT, P. 1991. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilms towards ciprofloxacin: effect of specific growth rate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 27, 177-184.
- EXNER, M., TUSCHEWITZKI, G. & SCHARNAGEL, J. 1987. Influence of biofilms by chemical disinfectants and mechanical cleaning. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Serie B, Umwelthygiene, Krankenhaushygiene, Arbeitshygiene, präventive Medizin*, 183, 549-563.
- 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. *Canadian journal of microbiology*, 48, 728-738.
- FAILLE, C., MEMBRE, J. M., USSIER, J. P., BELLON-FONTAINE, M. N., CARPENTIER, B., LAROCHE, M. A. & BENEZECH, T. 2000. Influence of physicochemical properties on the hygienic status of stainless steel with various finishes. *Biofouling*, 15, 261-274.
- FARBER, B. F., KAPLAN, M. H. & CLOGSTON, A. G. 1990. Staphylococcus epidermidis extracted slime inhibits the antimicrobial action of glycopeptide antibiotics. *Journal of Infectious Diseases*, 161, 37-40.
- FARRAH, S., BITTON, G., HOFFMANN, E., LANNI, O., PANCORBO, O., LUTRICK, M. & BERTRAND, J. 1981. Survival of enteroviruses and coliform bacteria in a sludge lagoon. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 459-465.
- FDA 1997. Food safety from farm to table: A national food safety Initiative. *Food Drug Administration*.
- FLETCHER, M. 1996. Diversity of surfaces and adhesion strategies. *Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity*, 19.
- FLEURETTE, J., FRENEY, J. & REVERDY, M.-É. 1997. *Guide pratique de l'antiseptie et de la désinfection*.
- FLINT, S., BREMER, P. & BROOKS, J. 1997. Biofilms in dairy manufacturing plant-description, current concerns and methods of control. *Biofouling*, 11, 81-97.
- FLINT, S., BROOKS, J. & BREMER, P. 2000. Properties of the stainless steel substrate, influencing the adhesion of thermo-resistant streptococci. *Journal of Food Engineering*, 43, 235-242.
- FLINT, S. H., VAN DEN ELZEN, H., BROOKS, J. D. & BREMER, P. J. 1999. Removal and inactivation of thermo-resistant streptococci colonising stainless steel. *International Dairy Journal*, 9, 429-436.
- FRANK, J. F., EHLERS, J. & WICKER, L. 2003. Removal of *Listeria monocytogenes* and poultry soil-containing biofilms using chemical cleaning and sanitizing agents under static conditions. *Food Protection Trends*, 23.
- FRANK, J. F. & KOFFI, R. A. 1990. Surface-adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat. *Journal of food protection*, 53, 550-554.
- FREGARD, F. 1991. *Rôle des interactions hydrophobes et électrostatiques dans l'adhésion de bactéries méthanogènes aux matériaux de faible énergie de surface*. Lille 1.
- FUQUA, C. & GREENBERG, E. P. 2002. Signalling: listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. *Nature reviews Molecular cell biology*, 3, 685.
- FUQUA, C., WINANS, S. C. & GREENBERG, E. P. 1996. Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. *Annual Reviews in Microbiology*, 50, 727-751.
- GALLARDO-MORENO, A., GONZALEZ-MARTIN, M., BRUQUE, J., PEREZ-GIRALDO, C. & GOMEZ-GARCIA, A. 2002. Temperature influence on the physicochemical surface properties and adhesion behaviour of *Enterococcus faecalis* to glass and silicone. *Journal of adhesion science and technology*, 16, 1215-1223.
- GARRY, P. 1997. *Propriétés physico-chimiques de surfaces en polyuréthane et conséquences sur l'encrassement et l'adhésion de Bacillus subtilis et Bacillus cereus*. Lyon 1.
- GEESEY, G. 1982. Microbial exopolymers: ecological and economic considerations. *Am Soc Microbiol News*, 48, 9-14.
- GIBBONS, R. J. & VAN HOUTE, J. 1980. Bacterial adherence and the formation of dental plaques. *Bacterial adherence*. Springer.

- GIFFEL, M. T., BEUMER, R., LANGEVELD, L. & ROMBOUTS, F. 1997. The role of heat exchangers in the contamination of milk with *Bacillus cereus* in dairy processing plants. *International journal of dairy technology*, 50, 43-47.
- GILBERT, P., COLLIER, P. J. & BROWN, M. 1990. Influence of growth rate on susceptibility to antimicrobial agents: biofilms, cell cycle, dormancy, and stringent response. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34, 1865.
- GILBERT, P. & MCBAIN, A. J. 2003. Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clinical microbiology reviews*, 16, 189-208.
- GLOVER, F. 1985. *Ultrafiltration and reverse osmosis for the dairy industry*, National Institute for research in Dairying Reading, England.
- GOLOMB, A. & BESIĆ, F. 1970. Reverse osmosis-a review of its applications to waste treatment.
- GOULD, W. A. 1994. *Current good manufacturing practices, food plant sanitation*, CTI Publications.
- GRIVET, M., MORRIER, J., BENAY, G. & BARSOTTI, O. 2000. Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 11, 637-642.
- GUIOT, E., GEORGES, P., BRUN, A., FONTAINE-AUPART, M., BELLON-FONTAINE, M.-N. & BRIANDET, R. 2002. Heterogeneity of Diffusion Inside Microbial Biofilms Determined by Fluorescence Correlation Spectroscopy Under Two-photon Excitation¶. *Photochemistry and Photobiology*, 75, 570-578.
- GUNDUZ, G. T. & TUNCEL, G. 2006. Biofilm formation in an ice cream plant. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 89, 329-336.
- GUOBUJOERNSDOTTIR, B., EINARSSON, H. & THORKELSSON, G. 2005. Microbial adhesion to processing lines for fish fillets and cooked shrimp: influence of stainless steel surface finish and presence of gram-negative bacteria on the attachment of *Listeria monocytogenes*. *Food Technology and Biotechnology*, 43, 55-61.
- HAAPASALO, M., ENDAL, U., ZANDI, H. & COIL, J. M. 2005. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodontic topics*, 10, 77-102.
- HALL-STOODLEY, L. & STOODLEY, P. 2002. Developmental regulation of microbial biofilms. *Current opinion in biotechnology*, 13, 228-233.
- HAMADI, F., ASSERNE, F., ELABED, S., BENSOUDA, S., MABROUKI, M. & LATRACHE, H. 2014. Adhesion of *Staphylococcus aureus* on stainless steel treated with three types of milk. *Food Control*, 38, 104-108.
- HAMADI, F. & LATRACHE, H. 2008. Comparison of contact angle measurement and microbial adhesion to solvents for assaying electron donor–electron acceptor (acid–base) properties of bacterial surface. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 65, 134-139.
- HAMADI, F., LATRACHE, H., EL GHMARI, A., ELLOUALI, M., MABROUKI, M. & KOUIDER, N. 2004. Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *ANNALS OF MICROBIOLOGY.*, 54, 213-226.
- HAMADI, F., LATRACHE, H., ELGHMARI, A., ZAHIR, H., MABROUKI, M. & ELBOUADILI, A. E. 2005. Determination of *Escherichia coli* Negative Charge Concentration From XPS Data and Its Variation with pH. *Journal of surface analysis*, 12, 293.
- HAMADI, F., LATRACHE, H., MALLOUKI, B., MLIJI, E., EL GHMARI, A., MABROUKI, M., BENGOURRAM, J. & ELLOUALI, M. 2008. Adhesion of *Escherichia coli* to glass under different pH. *J Pure Appl Microbiol*, 2.
- HAMADI, F., LATRACHE, H., ZAHIR, H., EL ABED, S., ELLOUALI, M. & SAAD, I. K. 2012. The relation between the surface chemical composition of *Escherichia coli* and their electron donor/electron acceptor (acid-base) properties. *Res J Microbiol*, 7, 32-40.
- HAMADI, F., LATRACHE, H., ZEKRAOUI, M., ELLOUALI, M. & BENGOURRAM, J. 2009. Effect of pH on surface energy of glass and Teflon and theoretical prediction of *Staphylococcus aureus* adhesion. *Materials Science and Engineering: C*, 29, 1302-1305.
- HASSAN, A. & FRANK, J. 2004. Attachment of *Escherichia coli* O157: H7 grown in tryptic soy broth and nutrient broth to apple and lettuce surfaces as related to cell hydrophobicity, surface charge, and capsule production. *International journal of food microbiology*, 96, 103-109.

- HAYASHI, K., MATSUGUCHI, N., UENOYAMA, K., KANEMARU, T. & SUGIOKA, Y. 1989. Evaluation of metal implants coated with several types of ceramics as biomaterials. *Journal of biomedical materials research*, 23, 1247-1259.
- HEINZEL, M. 1998. Phenomena of biocide resistance in microorganisms. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 3, 225-234.
- HERALD, P. J. & ZOTTOLA, E. A. 1988. Scanning electron microscopic examination of *Yersinia enterocolitica* attached to stainless steel at selected temperatures and pH values. *Journal of Food Protection*, 51, 445-448.
- HILBERT, L. R., BAGGE-RAVN, D., KOLD, J. & GRAM, L. 2003. Influence of surface roughness of stainless steel on microbial adhesion and corrosion resistance. *International biodeterioration & biodegradation*, 52, 175-185.
- HOLAH, J. 1992. Industrial monitoring: hygiene in food processing. *Biofilms—Science and Technology*. Springer.
- HOLAH, J., BETTS, R. & THORPE, R. 1989. The use of epifluorescence microscopy to determine surface hygiene. *International biodeterioration*, 25, 147-153.
- HOLAH, J. & THORPE, R. 1990. Cleanability in relation to bacterial retention on unused and abraded domestic sink materials. *Journal of Applied Bacteriology*, 69, 599-608.
- HOOD, S. K. & ZOTTOLA, E. A. 1997. Adherence to stainless steel by foodborne microorganisms during growth in model food systems. *International journal of food microbiology*, 37, 145-153.
- HOYLE, B. D., ALCANTARA, J. & COSTERTON, J. W. 1992. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm as a diffusion barrier to piperacillin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 36, 2054-2056.
- HOYLE, B. D., JASS, J. & COSTERTON, J. W. 1990. The biofilm glycocalyx as a resistance factor. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 26, 1-5.
- HUANG, C.-T., YU, F. P., MCFETERS, G. A. & STEWART, P. S. 1995. Nonuniform spatial patterns of respiratory activity within biofilms during disinfection. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 2252-2256.
- HUMPHRIES, M., NEMCEK, J., CANTWELL, J. B. & GERRARD, J. J. 1987. The use of graft copolymers to inhibit the adhesion of bacteria to solid surfaces. *FEMS Microbiology Ecology*, 3, 297-304.
- INVS 2008. INVS 07/08/09: Institut National de Veille Sanitaire : Données relatives aux toxi-infections alimentaires collectives en France en 2008.
. Institut National de Veille Sanitaire
- ISRAELACHVILI, J. & NINHAM, B. 1977. Intermolecular forces—the long and short of it. *Journal of Colloid and Interface Science*, 58, 14-25.
- JACQUET, C. & REYNAUD, A. 1994. Differences in the sensitivity to eight disinfectants of *Listeria monocytogenes* strains as related to their origin (short note). *International journal of food microbiology*, 22, 79-83.
- JAMES, A. 1991. Charge properties of microbial cell surfaces. *Microbial cell surface analysis: structural and physicochemical methods*, 221-262.
- JANA, T., SRIVASTAVA, A., CSERY, K. & ARORA, D. 1999. Influence of growth and environmental conditions on cell surface hydrophobicity of *Pseudomonas fluorescens* in non-specific adhesion. *Canadian journal of microbiology*, 46, 28-37.
- JANSEN, B. & KOHNEN, W. 1995. Prevention of biofilm formation by polymer modification. *Journal of industrial microbiology*, 15, 391-396.
- JEFFERSON, K. K. 2004. What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS microbiology letters*, 236, 163-173.
- JENKINSON, H. F. & LAPPIN-SCOTT, H. M. 2001. Biofilms adhere to stay. *TRENDS in Microbiology*, 9, 9-10.
- JESSEN, B. & LAMMERT, L. 2003. Biofilm and disinfection in meat processing plants. *International biodeterioration & biodegradation*, 51, 265-269.
- JUCKER, B. A., HARMS, H. & ZEHNDER, A. 1996. Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* 70401 to glass and Teflon. *Journal of bacteriology*, 178, 5472-5479.

- JULLIEN, C., BÉNÉZECH, T., CARPENTIER, B., LEBRET, V. & FAILLE, C. 2003. Identification of surface characteristics relevant to the hygienic status of stainless steel for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 56, 77-87.
- JULLIEN, C., BENEZECH, T., LE GENTIL, C., BOULANGE-PETERMANN, L., DUBOIS, P., TISSIER, J., TRAINSEL, M. & FAILLE, C. 2008. Physico-chemical and hygienic property modifications of stainless steel surfaces induced by conditioning with food and detergent. *Biofouling*, 24, 163-172.
- KAMGANG, J., NAITALI, M., HERRY, J., BELLON-FONTAINE, M., BRISSET, J. & BRIANDET, R. 2005. Effect of non-thermal humid air gliding arc plasma on solid surface physical & chemical properties and consequences on bacterial adhesion and destruction. *Proc. Biofilms, Arlington, USA*, 2.
- KANG, C.-K. & LEE, Y.-S. 2007. The surface modification of stainless steel and the correlation between the surface properties and protein adsorption. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18, 1389-1398.
- KEESOM, W. 1921. Van der Waals attractive force. *Physikalische Zeitschrift*, 22, 129-141.
- KIRTLEY, S. A. & MCGUIRE, J. 1989. On differences in surface constitution of dairy product contact materials. *Journal of Dairy Science*, 72, 1748-1753.
- KLOTZ, S. A., DRUTZ, D. & ZAJIC, J. 1985. Factors governing adherence of *Candida* species to plastic surfaces. *Infection and immunity*, 50, 97-101.
- KOUIDER, N., HAMADI, F., MALLOUKI, B., BENGOURRAM, J., MABROUKI, M., ZEKRAOUI, M., ELLOUALI, M. & LATRACHE, H. 2010. Effect of stainless steel surface roughness on *Staphylococcus aureus* adhesion. *International Journal of Pure and Applied Science*, 4, 1-7.
- KRÓLASIK, J., ZAKOWSKA, Z., KREPSKA, M. & KLIMEK, L. 2010. Resistance of bacterial biofilms formed on stainless steel surface to disinfecting agent. *Pol J Microbiol*, 59, 281-287.
- KRYSINSKI, E., BROWN, L. & MARCHISELLO, T. 1992. Effect of cleaners and sanitizers on *Listeria monocytogenes* attached to product contact surfaces. *Journal of Food Protection*, 55, 246-251.
- KUUSELA, P., MORAN, A. P., VARTIO, T. & KOSUNEN, T. U. 1989. Interaction of *Campylobacter jejuni* with extracellular matrix components. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 993, 297-300.
- LANGEVELD, L., WEERKAMP, A., WAALEWIJN, R. & WEVER, J. 1995. Adherence, growth and release of bacteria in a tube heat exchanger for milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*.
- LANGSRUD, S., SIDHU, M. S., HEIR, E. & HOLCK, A. L. 2003. Bacterial disinfectant resistance—a challenge for the food industry. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51, 283-290.
- LANGSRUD, S. & SUNDHEIM, G. 1997. Factors contributing to the survival of poultry associated *Pseudomonas* spp. exposed to a quaternary ammonium compound. *Journal of applied microbiology*, 82, 705-712.
- LATRACHE, H., EL, G., KARROUA, M., HAKKOU, A., AIT, M., EL, B. & BOURLIOUX, P. 2002. Relations between hydrophobicity tested by three methods and surface chemical composition of *Escherichia coli*. *The new microbiologica*, 25, 75-82.
- LATRACHE, H., MOZES, N., PELLETIER, C. & BOURLIOUX, P. 1994. Chemical and physicochemical properties of *Escherichia coli*: variations among three strains and influence of culture conditions. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 2, 47-56.
- LECHEVALLIER, M. W., BABCOCK, T. M. & LEE, R. G. 1987. Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 2714-2724.
- LECLERCQ-PERLAT, M.-N. & LALANDE, M. 1994. Cleanability in relation to surface chemical composition and surface finishing of some materials commonly used in food industries. *Journal of Food Engineering*, 23, 501-517.
- LELIEVELD, H. L., MOSTERT, M., WHITE, B. & HOLAH, J. 2003. *Hygiene in food processing: Principles and practice*, Woodhead Publishing.
- LELIEVRE, C., FAILLE, C. & BENEZECH, T. 2001. Removal kinetics of *Bacillus cereus* spores from stainless steel pipes under CIP procedure: influence of soiling and cleaning conditions. *Journal of food process engineering*, 24, 359-379.

- LEWIS, K. 2005. Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Moscow)*, 70, 267-274.
- LI, J. & MCLANDBOROUGH, L. 1999. The effects of the surface charge and hydrophobicity of *Escherichia coli* on its adhesion to beef muscle. *International journal of food microbiology*, 53, 185-193.
- LOCK, M. 1993. Attached microbial communities in streams. *Aquatic microbiology: an ecological approach*, 113-138.
- LONDON, F. 1930. Zur theorie und systematik der molekularkräfte. *Zeitschrift für Physik*, 63, 245-279.
- MAFU, A. A., ROY, D., GOULET, J. & MAGNY, P. 1990. Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel, glass, polypropylene, and rubber surfaces after short contact times. *Journal of Food Protection*, 53, 742-746.
- MAGNUSSON, K. E., STENDAHL, O., TAGESSON, C., EDEBO, L. & JOHANSSON, G. 1977. THE TENDENCY OF SMOOTH AND ROUGH SALMONELLA TYPHIMURIUMBACTERIA AND LIPOPOLYSACCHARIDE TO HYDROPHOBIC AND IONIC INTERACTION, AS STUDIED IN AQUEOUS POLYMER TWO-PHASE SYSTEMS. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology*, 85, 212-218.
- MAH, T.-F. C. & O'TOOLE, G. A. 2001. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in microbiology*, 9, 34-39.
- MAILLARD, J. Y. 2002. Bacterial target sites for biocide action. *Journal of applied microbiology*, 92, 16S-27S.
- MALLER, R. R. 1998. Passivation of stainless steel. *Trends in food science & technology*, 9, 28-32.
- MARIS, P. 1995. Modes of action of disinfectants. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 14, 47-47.
- MARSHALL, K. C. 1985. Mechanisms of bacterial adhesion at solid-water interfaces. *Bacterial adhesion*. Springer.
- MASSICOTTE, R., GINESTET, P., YAHIA, L. H., PICHETTE, G. & MAFU, A. 2011. Comparative study from a chemical perspective of two-and three-step disinfection techniques to control *Clostridium difficile* spores. *Int J Infect Control*, 7, 1-8.
- MAUKONEN, J., MÄTTÖ, J., WIRTANEN, G., RAASKA, L., MATTILA-SANDHOLM, T. & SAARELA, M. 2003. Methodologies for the characterization of microbes in industrial environments: a review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30, 327-356.
- MCDONNELL, G. & RUSSELL, A. D. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews*, 12, 147-179.
- MCFETERS, G. A., YU, F. P., PYLE, B. H. & STEWART, P. S. 1995. Physiological methods to study biofilm disinfection. *Journal of industrial microbiology*, 15, 333-338.
- MELO, L., BOTT, T., FLETCHER, M. & CAPDEVILLE, B. 2012. *Biofilms-science and technology*, Springer Science & Business Media.
- MERCIER-BONIN, M., OUAZZANI, K., SCHMITZ, P. & LORTHOIS, S. 2004. Study of bioadhesion on a flat plate with a yeast/glass model system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271, 342-350.
- MEREGHETTI, L., QUENTIN, R., MARQUET-VAN DER MEE, N. & AUDURIER, A. 2000. Low sensitivity of *Listeria monocytogenes* to quaternary ammonium compounds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 5083-5086.
- METTLER, E. & CARPENTIER, B. 1999. Hygienic quality of floors in relation to surface texture. *Food and bioproducts processing*, 77, 90-96.
- MEYLHEUC, T., VAN OSS, C. & BELLON-FONTAINE, M. N. 2001. Adsorption of biosurfactant on solid surfaces and consequences regarding the bioadhesion of *Listeria monocytogenes* LO28. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 822-832.
- MILLSAP, K., REID, G., VAN DER MEI, H. & BUSSCHER, H. 1997. Adhesion of *Lactobacillus* species in urine and phosphate buffer to silicone rubber and glass under flow. *Biomaterials*, 18, 87-91.
- MLIJI, E. M. 2009. *Etude de l'adhésion bactérienne et la formation de biofilms sur les surfaces du secteur agroalimentaire : Cas de Pseudomonas sur la canalisation d'eau potable et de*

- Salmonella SPP sur l'acier inoxydable. Thèse de doctorat.* Université Sultane Moulay Slimane- FST béni Mellal.
- MOKGATLA, R., GOUWS, P. & BRÖZEL, V. 2002. Mechanisms contributing to hypochlorous acid resistance of a Salmonella isolate from a poultry-processing plant. *Journal of applied microbiology*, 92, 566-573.
- MONNARTZ, P. 1911. Iron-chromium alloys with special consideration of resistance to acids. *Metallurgie (Halle)*, 8, 161-176.
- MORTON, L. & GAYLARDE, C. 2001. The role of microbial slimes in biodeterioration. *Culture*, 22, 1-8.
- MOSTELLER, T. & BISHOP, J. 1993. Sanitizer efficacy against attached bacteria in a milk biofilm. *Journal of food protection*, 56, 34-41.
- MOUSAVI, Z. E., KENNEDY, E., FANNING, S., RICE, J. H. & BUTLER, F. 2014. The effect of Quaternary Ammonium Compounds on the attachment of wild and adapted Pseudomonas putida strains to different contact materials used in the food sector. *Food Control*, 42, 277-283.
- MOZES, N., AMORY, D., LEONARD, A. & ROUXHET, P. 1989. Surface properties of microbial cells and their role in adhesion and flocculation. *Colloids and surfaces*, 42, 313-329.
- MOZES, N., LÉONARD, A. & ROUXHET, P. G. 1988. On the relations between the elemental surface composition of yeasts and bacteria and their charge and hydrophobicity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 945, 324-334.
- MOZES, N. & ROUXHET, P. 1987. Methods for measuring hydrophobicity of microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 6, 99-112.
- MURPHY, P. M., LYNCH, D. & KELLY, P. M. 1999. Growth of thermophilic spore forming bacilli in milk during the manufacture of low heat powders. *International journal of dairy technology*, 52, 45-50.
- MUSTAPHA, A. & LIEWEN, M. 1989. Destruction of Listeria monocytogenes by sodium hypochlorite and quaternary ammonium sanitizers. *Journal of Food Protection*, 52, 306-311.
- NICHOLS, W. 1989. *Susceptibility of biofilms to toxic compounds*, Wiley-Interscience.
- NIU, C. & GILBERT, E. 2004. Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 6951-6956.
- NORWOOD, D. & GILMOUR, A. 2000. The growth and resistance to sodium hypochlorite of Listeria monocytogenes in a steady-state multispecies biofilm. *Journal of applied microbiology*, 88, 512-520.
- NTSAMA-ESSOMBA, C., BOUTTIER, S., RAMALDES, M., DUBOIS-BRISSONNET, F. & FOURNIAT, J. 1997. Resistance of Escherichia coli growing as biofilms to disinfectants. *Veterinary Research*, 28, 353-363.
- O'TOOLE, G., KAPLAN, H. B. & KOLTER, R. 2000. Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54, 49-79.
- O'TOOLE, G. A. & KOLTER, R. 1998. Flagellar and twitching motility are necessary for Pseudomonas aeruginosa biofilm development. *Molecular microbiology*, 30, 295-304.
- OLIVEIRA, K., OLIVEIRA, T., TEIXEIRA, P., AZEREDO, J. & OLIVEIRA, R. 2007. Adhesion of Salmonella Enteritidis to stainless steel surfaces. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 318-323.
- OLIVIERO, L. 1993. *Adhésion de Escherichia coli sur sonde: modulation par effet direct d'une molécule à élimination urinaire, la nitroxoline*. Paris 11.
- OLSSON, C.-O. & LANDOLT, D. 2003. Passive films on stainless steels—chemistry, structure and growth. *Electrochimica acta*, 48, 1093-1104.
- ONG, Y.-L., RAZATOS, A., GEORGIU, G. & SHARMA, M. M. 1999. Adhesion Forces between E. coli bacteria and biomaterial surfaces. *Langmuir*, 15, 2719-2725.
- PARSEK, M. R. & GREENBERG, E. 2005. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in microbiology*, 13, 27-33.
- PASHLEY, R. 1981. DLVO and hydration forces between mica surfaces in Li⁺, Na⁺, K⁺, and Cs⁺ electrolyte solutions: A correlation of double-layer and hydration forces with surface cation exchange properties. *Journal of colloid and interface science*, 83, 531-546.

- PASTEUR, L. D. L. I. 2011. L'inquiétante émergence d'une salmonelle multirésistante aux antibiotiques, LA, Lettre trimestrielle d'informations – n°75, Décembre 2011, P9.
. *lettre de l'institut pasteur*.
- PEARSON, J. P., VAN DELDEN, C. & IGLEWSKI, B. H. 1999. Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signals. *Journal of bacteriology*, 181, 1203-1210.
- PEDERSEN, K., HOLMSTRÖM, C., OLSSON, A.-K. & PEDERSEN, A. 1986. Statistic evaluation of the influence of species variation, culture conditions, surface wettability and fluid shear on attachment and biofilm development of marine bacteria. *Archives of microbiology*, 145, 1-8.
- PELLETIER, C., BOULEY, C., CAYUELA, C., BOUTTIER, S., BOURLIOUX, P. & BELLON-FONTAINE, M.-N. 1997. Cell surface characteristics of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 1725-1731.
- PEMBREY, R. S., MARSHALL, K. C. & SCHNEIDER, R. P. 1999. Cell surface analysis techniques: what do cell preparation protocols do to cell surface properties? *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 2877-2894.
- PENG, C., CHOW, A. H. & CHAN, C. K. 2001. Hygroscopic study of glucose, citric acid, and sorbitol using an electrodynamic balance: Comparison with UNIFAC predictions. *Aerosol Science & Technology*, 35, 753-758.
- PEREIRA, M., ALVES, M., AZEREDO, J., MOTA, M. & OLIVEIRA, R. 2000. Influence of physico-chemical properties of porous microcarriers on the adhesion of an anaerobic consortium. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 24, 181-186.
- PÉREZ-RODRÍGUEZ, F., VALERO, A., CARRASCO, E., GARCÍA, R. M. & ZURERA, G. 2008. Understanding and modelling bacterial transfer to foods: a review. *Trends in food science & Technology*, 19, 131-144.
- PETROCCI, A. 1983. Surface-active agents: Quaternary ammonium compounds.
- PRAKASH, B., VEEREGOWDA, B. & KRISHNAPPA, G. 2003. Biofilms: a survival strategy of bacteria. *Current science*, 85, 1299-1307.
- PRATT-TERPSTRA, I. H., WEERKAMP, A. H. & BUSSCHER, H. J. 1987. Adhesion of oral streptococci from a flowing suspension to uncoated and albumin-coated surfaces. *Microbiology*, 133, 3199-3206.
- PRINGLE, J. H. & FLETCHER, M. 1983. Influence of substratum wettability on attachment of freshwater bacteria to solid surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 811-817.
- RADKE, B. R., MCFALL, M. & RADOSTITS, S. M. 2002. Salmonella Muenster infection in a dairy herd. *The Canadian Veterinary Journal*, 43, 443.
- REACH 2007. règlement européen pour sécuriser la fabrication et l'utilisation des substances chimiques dans l'industrie européenne (règlement n°1907/2006)
- RIJNAARTS, H. H., NORDE, W., BOUWER, E. J., LYKLEMA, J. & ZEHNDER, A. J. 1996. Bacterial deposition in porous media: effects of cell-coating, substratum hydrophobicity, and electrolyte concentration. *Environmental science & technology*, 30, 2877-2883.
- ROSSONI, E. & GAYLARDE, C. 2000. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. *International Journal of food microbiology*, 61, 81-85.
- ROUXHET, P., MOZES, N., DENGIS, P., DUFRÊNE, Y., GERIN, P. A. & GENET, M. 1994. Application of X-ray photoelectron spectroscopy to microorganisms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2, 347-369.
- RUBIO, C. 2002. *Compréhension des mécanismes d'adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention*. Paris 6.
- SADIKI, M., BARKAI, H., IBNSOUDA KORAICHI, S. & ELABED, S. 2014. The effect of the *Thymus vulgaris* extracts on the physicochemical characteristics of cedar wood using angle contact measurement. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 28, 1925-1934.
- SALUSTIANO, V., ANDRADE, N., RIBEIRO JUNIOR, J., FERNANDES, P., LOPES, J., BERNARDES, P. & PORTUGAL, J. 2010. Controlling *Bacillus cereus* adherence to stainless

- steel with different cleaning and sanitizing procedures used in dairy plants. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62, 1478-1483.
- SAUER, K. & CAMPER, A. K. 2001. Characterization of phenotypic changes in *Pseudomonas putida* in response to surface-associated growth. *Journal of Bacteriology*, 183, 6579-6589.
- SCHEUERMAN, T. R., CAMPER, A. K. & HAMILTON, M. A. 1998. Effects of substratum topography on bacterial adhesion. *Journal of colloid and interface science*, 208, 23-33.
- SCHULZE-RÖBBECKE, R. & FISCHEDER, R. 1989. Mycobacteria in biofilms. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 188, 385-390.
- SCOTT, S. A., BROOKS, J. D., RAKONJAC, J., WALKER, K. M. & FLINT, S. H. 2007. The formation of thermophilic spores during the manufacture of whole milk powder. *International journal of dairy technology*, 60, 109-117.
- SCOTT, W. G., SCOTT, H. M., LAKE, R. J. & BAKER, M. G. 2000. Economic cost to New Zealand of foodborne infectious disease. *New Zealand Medical Journal*, 113, 281.
- SHARMA, M. & ANAND, S. 2002. Biofilms evaluation as an essential component of HACCP for food/dairy processing industry—a case. *Food control*, 13, 469-477.
- SHENG, X., TING, Y. P. & PEHKONEN, S. O. 2008. The influence of ionic strength, nutrients and pH on bacterial adhesion to metals. *Journal of Colloid and Interface Science*, 321, 256-264.
- SIDHU, M. S., HEIR, E., LEEGAARD, T., WIGER, K. & HOLCK, A. 2002a. Frequency of disinfectant resistance genes and genetic linkage with β -lactamase transposon Tn552 among clinical staphylococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46, 2797-2803.
- SIDHU, M. S., SØRUM, H. & HOLCK, A. 2002b. Resistance to quaternary ammonium compounds in food-related bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 8, 393-399.
- SIHORKAR, V. & VYAS, S. 2001. Biofilm consortia on biomedical and biological surfaces: delivery and targeting strategies. *Pharmaceutical research*, 18, 1247-1254.
- SILVA, S., TEIXEIRA, P., OLIVEIRA, R. & AZEREDO, J. 2008. Adhesion to and viability of *Listeria monocytogenes* on food contact surfaces. *Journal of food protection*, 71, 1379-1385.
- SIMÕES, M., SIMÕES, L. C., MACHADO, I., PEREIRA, M. O. & VIEIRA, M. J. 2006. Control of flow-generated biofilms with surfactants: evidence of resistance and recovery. *Food and Bioprocess Processing*, 84, 338-345.
- SINDE, E. & CARBALLO, J. 2000. Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiology*, 17, 439-447.
- SODERQUIST, M. & WALTON, A. 1980. Structural changes in proteins adsorbed on polymer surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 75, 386-397.
- SOMERS, E. B. & LEE WONG, A. C. 2004. Efficacy of two cleaning and sanitizing combinations on *Listeria monocytogenes* biofilms formed at low temperature on a variety of materials in the presence of ready-to-eat meat residue. *Journal of food protection*, 67, 2218-2229.
- SOUMYA, E., SAAD, I. K., ABDELLAH, H. & HASSAN, L. 2013. Experimental and theoretical investigations of the adhesion time of *Penicillium* spores to cedar wood surface. *Materials Science and Engineering: C*, 33, 1276-1281.
- SPOERING, A. L. & LEWIS, K. 2001. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *Journal of bacteriology*, 183, 6746-6751.
- SRINIVASAN, R., STEWART, P. S., GRIEBE, T., CHEN, C. I. & XU, X. 1995. Biofilm parameters influencing biocide efficacy. *Biotechnology and Bioengineering*, 46, 553-560.
- STANLEY, P. M. 1983. Factors affecting the irreversible attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel. *Canadian journal of microbiology*, 29, 1493-1499.
- SUNDGREN, J. E., BODÖ, P., LUNDSTRÖM, I., BERGGREN, A. & HELLEM, S. 1985. Auger electron spectroscopic studies of stainless-steel implants. *Journal of biomedical materials research*, 19, 663-671.
- SURDEAU, N., LAURENT-MAQUIN, D., BOUTHORS, S. & GELLÉ, M.-P. 2006. Sensitivity of bacterial biofilms and planktonic cells to a new antimicrobial agent, Oxsil® 320N. *Journal of Hospital Infection*, 62, 487-493.
- SURETTE, M. G., MILLER, M. B. & BASSLER, B. L. 1999. Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 1639-1644.

- SUTHERLAND, I. W. 2001. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, 147, 3-9.
- SZUMIGAJ, J., ZAKOWSKA, Z. & KLIMEK, L. 2008. Exopolysaccharide production by *Bacillus* strains colonizing packaging foils. *Polish journal of microbiology*, 57, 281-287.
- TANG, R. & COONEY, J. 1998. Effects of marine paints on microbial biofilm development on three materials. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20, 275-280.
- TEBBS, S., SAWYER, A. & ELLIOTT, T. 1994. Influence of surface morphology on in vitro bacterial adherence to central venous catheters. *BJA: British Journal of Anaesthesia*, 72, 587-591.
- TEIXEIRA, P., LIMA, J., AZEREDO, J. & OLIVEIRA, R. 2008. Adhesion of *Listeria monocytogenes* to materials commonly found in domestic kitchens. *International journal of food science & technology*, 43, 1239-1244.
- TEIXEIRA, P., LOPES, Z., AZEREDO, J., OLIVEIRA, R. & VIEIRA, M. J. 2005. Physico-chemical surface characterization of a bacterial population isolated from a milking machine. *Food Microbiology*, 22, 247-251.
- TEIXEIRA, P. & OLIVEIRA, R. 1999. Influence of surface characteristics on the adhesion of *Alcaligenes denitrificans* to polymeric substrates. *Journal of adhesion science and technology*, 13, 1287-1294.
- TRACHOO, N. & FRANK, J. F. 2002. Effectiveness of chemical sanitizers against *Campylobacter jejuni*-containing biofilms. *Journal of food protection*, 65, 1117-1121.
- TRUEMAN, J. 1971. The halogens. *Inhibition and destruction of the microbial cell*. Academic Press London.
- TSUNEDA, S., AIKAWA, H., HAYASHI, H., YUASA, A. & HIRATA, A. 2003. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface. *FEMS microbiology letters*, 223, 287-292.
- VADILLO-RODRIGUEZ, V., BUSSCHER, H. J., VAN DER MEI, H. C., DE VRIES, J. & NORDE, W. 2005. Role of *Lactobacillus* cell surface hydrophobicity as probed by AFM in adhesion to surfaces at low and high ionic strength. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 41, 33-41.
- VAILLANT, V., DE VALK, H. & BARON, E. 2004. Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. *Institut de Veille Sanitaire. On line: http://www.invs.sante.fr/publications/2004/inf_origine_alimentaire/inf_origine_alimentaire.pdf*.
- VAN DER MEI, H., DE VRIES, J. & BUSSCHER, H. 1993. Hydrophobic and electrostatic cell surface properties of thermophilic dairy streptococci. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 4305-4312.
- VAN DER MEI, H. C., COWAN, M. M. & BUSSCHER, H. J. 1991. Physicochemical and structural studies on *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 and MR-481—Two standard strains in hydrophobicity tests. *Current Microbiology*, 23, 337-341.
- VAN DER WAL, A., NORDE, W., ZEHNDER, A. J. & LYKLEMA, J. 1997. Determination of the total charge in the cell walls of Gram-positive bacteria. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 9, 81-100.
- VAN LOOSDRECHT, M., LYKLEMA, J., NORDE, W., SCHRAA, G. & ZEHNDER, A. 1987. The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1893-1897.
- VAN LOOSDRECHT, M. C., LYKLEMA, J., NORDE, W. & ZEHNDER, A. 1990. Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 54, 75-87.
- VAN OSS, C. 1993. Acid—base interfacial interactions in aqueous media. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 78, 1-49.
- VAN OSS, C. 1995. Hydrophobicity of biosurfaces—origin, quantitative determination and interaction energies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 5, 91-110.
- VAN OSS, C. & GIESE, R. 1995. The hydrophilicity and hydrophobicity of clay minerals. *Clays and Clay minerals*, 43, 474-477.
- VAN OSS, C., GOOD, R. & CHAUDHURY, M. 1986. The role of van der Waals forces and hydrogen bonds in “hydrophobic interactions” between biopolymers and low energy surfaces. *Journal of colloid and Interface Science*, 111, 378-390.

- VAN OSS, C., GOOD, R. & CHAUDHURY, M. 1988a. Additive and nonadditive surface tension components and the interpretation of contact angles. *Langmuir*, 4, 884-891.
- VAN OSS, C. J. 1996. *Forces interfaciales en milieux aqueux*, Masson, SA.
- VAN OSS, C. J., CHAUDHURY, M. K. & GOOD, R. J. 1988b. Interfacial Lifshitz-van der Waals and polar interactions in macroscopic systems. *Chemical Reviews*, 88, 927-941.
- VAN PELT, A., WEERKAMP, A., UYEN, M. H., BUSSCHER, H. J., DE JONG, H. P. & ARENDS, J. 1985. Adhesion of *Streptococcus sanguis* CH3 to polymers with different surface free energies. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49, 1270-1275.
- VATANYOOPAISARN, S., NAZLI, A., DODD, C. E., REES, C. E. & WAITES, W. M. 2000. Effect of flagella on initial attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 860-863.
- VERRAN, J., LEES, G. & SHAKESPEARE, A. P. 1991. The effect of surface roughness on the adhesion of *Candida albicans* to acrylic. *Biofouling*, 3, 183-191.
- VERSTRAETEN, N., BRAEKEN, K., DEBKUMARI, B., FAUVART, M., FRANSAER, J., VERMANT, J. & MICHIELS, J. 2008. Living on a surface: swarming and biofilm formation. *Trends in microbiology*, 16, 496-506.
- VERWEY, E. J. W. 1947. Theory of the stability of lyophobic colloids. *The Journal of Physical Chemistry*, 51, 631-636.
- VOGLER, E. A. 1998. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Advances in colloid and interface science*, 74, 69-117.
- WANG, W., POWERS, B., LEUCHTEFELD, N. & BLASER, M. 1983. Effects of disinfectants on *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 1202-1205.
- WHITEHEAD, K. A., COLLIGON, J. & VERRAN, J. 2004. The production of surfaces of defined topography and chemistry for microbial retention studies, using ion beam sputtering technology. *International biodeterioration & biodegradation*, 54, 143-151.
- WHITEHEAD, K. A. & VERRAN, J. 2006. The effect of surface topography on the retention of microorganisms. *Food and bioproducts processing*, 84, 253-259.
- WIDMER, A., FREI, R., RAJACIC, Z. & ZIMMERLI, W. 1990. Correlation between in vivo and in vitro efficacy of antimicrobial agents against foreign body infections. *Journal of Infectious Diseases*, 162, 96-102.
- WIENCEK, K. M., KLAPES, N. A. & FOEGEDING, P. 1990. Hydrophobicity of *Bacillus* and *Clostridium* spores. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2600-2605.
- WILDBRETT, G. & SAUERER, V. 1989. Cleanability of PMMA and PP compared with stainless steel. *Fouling and Cleaning in Food Processing. Proceedings ICFC*, 163-177.
- WINGENDER, J., NEU, T. R. & FLEMMING, H.-C. 1999. What are bacterial extracellular polymeric substances? *Microbial extracellular polymeric substances*. Springer.
- WIRTANEN, G. 1995. Biofilm formation and its elimination from food processing equipment.
- WIRTANEN, G. & MATTILA-SANDHOLM, T. 1992. Effect of the growth phase of foodborne biofilms on their resistance to a chlorine sanitizer. II. *Lebensmittel-Wissenschaft+Technologie*, 25, 50-54.
- WU, W., GIESE JR, R. & VAN OSS, C. 1994. Linkage between ζ -potential and electron donicity of charged polar surfaces 1. Implications for the mechanism of flocculation of particle suspensions with plurivalent counterions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 89, 241-252.
- YAMAUCHI, M., YAMAMOTO, K., WAKABAYASHI, M. & KAWANO, J. 1990. In vitro adherence of microorganisms to denture base resin with different surface texture. *Dental Materials Journal*, 9, 19-24,121.
- ZHUANG, R., BEUCHAT, L. & ANGULO, F. 1995. Fate of *Salmonella montevideo* on and in raw tomatoes as affected by temperature and treatment with chlorine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 2127-2131.
- ZOBELL, C. E. 1943. The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of bacteriology*, 46, 39.
- 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, 125-148.

LISTE DES ANNEXES

| | |
|---|-----|
| <i>Annexe 1: Caractérisation physicochimique des surfaces des Escherichia coli par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants à deux forces ioniques (0,1M – 0,001M)</i> | 221 |
| <i>Annexe 2 : Caractérisation physicochimique des surfaces des salmonelles par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants à deux forces ioniques (0,1M – 0,001M)</i> | 222 |
| <i>Annexe 3 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L</i> | 223 |
| <i>Annexe 4 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de salmonelle sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L. 223</i> | 223 |
| <i>Annexe 5 : Caractères physicochimiques des surface du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par l'hypochlorite de sodium à 6° ; 8° ; 10° ;12° ; 14° ; 16° et 18°Chl.</i> | 224 |
| <i>Annexe 6 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur le verre en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium.....</i> | 225 |
| <i>Annexe 7: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium</i> | 225 |
| <i>Annexe 8: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium</i> | 226 |
| <i>Annexe 9: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium</i> | 226 |
| <i>Annexe 10 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur le verre en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène.....</i> | 227 |
| <i>Annexe 11: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène</i> | 227 |
| <i>Annexe 12 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène</i> | 228 |
| <i>Annexe 13 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de Escherichia coli sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène</i> | 228 |
| <i>Annexe 14: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur le verre en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium</i> | 229 |
| <i>Annexe 15 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de salmonelles sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium.....</i> | 229 |
| <i>Annexe 16 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de salmonelles sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium.....</i> | 230 |

| | |
|---|------------|
| <i>Annexe 17: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de salmonelles sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium.....</i> | <i>230</i> |
| <i>Annexe 18 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur le verre en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène</i> | <i>231</i> |
| <i>Annexe 19 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène</i> | <i>231</i> |
| <i>Annexe 20 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène.....</i> | <i>232</i> |
| <i>Annexe 21 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide –base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène</i> | <i>232</i> |

Annexe 1: Caractérisation physicochimique des surfaces des *Escherichia coli* par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants à deux forces ioniques (0,1M – 0,001M)

| | <i>E.coli</i> | Contact angles (°) | | | Surface tension: components and parameters (mJm ⁻²) | | | | Hydrophobicity (mJm ⁻²) |
|------------------|-------------------|--------------------|-------------|-------------|---|-------|-------|-------|-------------------------------------|
| | | Ow | Of | Od | ylw | y+ | y- | yab | Dgiwi |
| 0,1M | <i>E.coli EI1</i> | 99,8 (1,2) | 78,28 (3,2) | 46,12 (4,2) | 36,31 | 0,51 | 1,40 | 1,69 | -70,7 |
| | <i>E.coli 38</i> | 93,7 (0,6) | 70,88 (0,3) | 35,02 (3,2) | 41,92 | 0,44 | 2,31 | 2,01 | -68,5 |
| | <i>E.col 64</i> | 77,58 (1,5) | 66,74 (1,8) | 53,7 (2,3) | 32,09 | 0,25 | 13,84 | 3,74 | -26,1 |
| | <i>E.coli 19</i> | 74,03 (3,2) | 63,35 (2,9) | 46,85 (2) | 35,92 | 0,13 | 15,27 | 2,84 | -25,0 |
| | <i>E.coli EM3</i> | 74,2 (3,4) | 63,85 (4,6) | 64,61 (1,5) | 25,87 | 0,60 | 14,93 | 5,99 | -20,7 |
| | <i>E.coli EM4</i> | 69,44 (2,3) | 84,28 (2,1) | 42,2 (3,6) | 38,39 | 7,09 | 45,82 | 36,06 | 11,8 |
| | <i>E.coli I3</i> | 54,15 (1,4) | 53,6 (1,2) | 45,41(0,9) | 36,70 | 0,04 | 35,32 | 2,37 | 13,4 |
| | <i>E.coli EI3</i> | 56,5 (3,0) | 57,8 (2,0) | 64,92 (2,2) | 25,69 | 0,62 | 35,15 | 9,35 | 14,6 |
| | <i>E.coli EI4</i> | 75,38 (3,5) | 92,06 (4,1) | 64,2 (4,3) | 26,11 | 4,84 | 42,71 | 28,75 | 16,6 |
| | <i>E.coli 76</i> | 33,22 (0,9) | 34,58 (5,1) | 73,42 (1,6) | 20,95 | 5,15 | 46,11 | 30,81 | 19,3 |
| | <i>E.coli EI2</i> | 42,52 (2,7) | 44,22 (2,3) | 65,68 (4,8) | 25,28 | 1,98 | 42,67 | 18,40 | 21,3 |
| <i>E.coli 65</i> | 51,43 (1,4) | 74,38 (0,9) | 64,98 (1,6) | 25,66 | 1,31 | 66,91 | 18,70 | 48,6 | |
| 0,001M | <i>E.coli EI1</i> | 89,18 (2,1) | 80,32 (4.1) | 44,20 (2.8) | 37,36 | 1,96 | 9,60 | 8,67 | -32,7 |
| | <i>E.coli 38</i> | 83,00 (0,7) | 68,03 (0.8) | 44,20 (3.2) | 37,36 | 0,16 | 8,25 | 2,27 | -44,7 |
| | <i>E.col 64</i> | 71,85 (1,9) | 64,18 (2.7) | 47,40 (1.1) | 35,64 | 0,10 | 18,36 | 2,64 | -17,9 |
| | <i>E.coli 19</i> | 70,23 (2,3) | 56,32 (1.9) | 44,52 (2.5) | 37,19 | 0,05 | 14,67 | 1,70 | -27,6 |
| | <i>E.coli EM3</i> | 72,50 (1,8) | 58,46 (3.1) | 46,14 (3.3) | 36,32 | 0,04 | 13,38 | 1,38 | -30,7 |
| | <i>E.coli EM4</i> | 60,38 (1,4) | 67,01 (3.5) | 36,60 (2.1) | 41,19 | 2,09 | 40,07 | 18,31 | 12,3 |
| | <i>E.coli I3</i> | 51,43(3,4) | 46,23 (5.0) | 53,16 (5.0) | 32,43 | 0,66 | 32,12 | 9,23 | 8,4 |
| | <i>E.coli EI3</i> | 50,02 (3,8) | 42,05 (2.9) | 53,22 (2.6) | 32,39 | 1,17 | 30,70 | 11,99 | 5,7 |
| | <i>E.coli EI4</i> | 56,00 (4,1) | 72,61 (3.0) | 60,76 (3.4) | 28,08 | 1,04 | 54,76 | 15,06 | 37,1 |
| | <i>E.coli 76</i> | 33,26 (2,6) | 39,81 (4.8) | 66,26 (4.7) | 24,93 | 2,26 | 51,25 | 21,54 | 29,7 |
| | <i>E.coli EI2</i> | 27,70 (1,9) | 37,93 (2.6) | 68,48 (0.9) | 23,68 | 2,71 | 56,09 | 24,66 | 33,1 |
| <i>E.coli 65</i> | 44,43 (2,8) | 53,08 (1.7) | 58,13 (2.2) | 29,59 | 0,10 | 49,77 | 4,46 | 36,8 | |

Annexe 2 : Caractérisation physicochimique des surfaces des salmonelles par l'angle de contact mesuré par rapport aux différents solvants à deux forces ioniques (0,1M – 0,001M)

| Force ionique | Angle de contact (°) | | | | Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) en (mJm^{-2}) | | | ΔG_{iwi} (mJm^{-2}) |
|---------------|----------------------|------------|------------|------------|--|------------|------------|---------------------------------|
| | Souches | Θ_w | Θ_f | Θ_d | γ^{LW} | γ^+ | γ^- | ΔG_{iwi} |
| 0.1M | <i>S. muenster</i> | 30,8 (1,4) | 52,7 (1,2) | 29,9 (2,1) | 44,3 | 1,5 | 72,0 | 44,7 |
| | <i>S. newport</i> | 39,4 (2,2) | 46,6 (1,9) | 24,7 (3,2) | 46,3 | 0,5 | 51,7 | 28,1 |
| | <i>S. kentucky</i> | 31,1 (1,7) | 51,4 (4,4) | 70,1 (2,6) | 22,8 | 0,6 | 66,9 | 44,4 |
| | <i>S. infantis</i> | 9,7 (1,2) | 15,5 (2,0) | 29,8 (3,7) | 44,2 | 0,5 | 56,9 | 35,8 |
| | <i>S. mbandaka</i> | 46,1 (2,5) | 40,6 (1,9) | 30,1 (2,1) | 36,0 | 0,1 | 40,5 | 21,3 |
| 0.001M | <i>S. muenster</i> | 46,1 (2,7) | 46,6 (3,3) | 46,8 (1,6) | 36,0 | 0,1 | 40,5 | 21,3 |
| | <i>S. newport</i> | 81,2 (2,3) | 69,8 (1,5) | 23,3 (1,3) | 46,6 | 1,8 | 11,6 | -33,5 |
| | <i>S. kentucky</i> | 79,2 (0,9) | 74,8 (2,3) | 13,3 (2,8) | 49,3 | 4,5 | 18,0 | -20,3 |
| | <i>S. infantis</i> | 38,4 (2,0) | 30,2 (1,3) | 27,9 (4,5) | 44,9 | 0,2 | 38,8 | 36,2 |
| | <i>S. mbandaka</i> | 51,2 (3,4) | 70,0 (2,8) | 64,1 (1,1) | 26,1 | 0,5 | 60,2 | 46,5 |

L'écart-type est donné entre parenthèse

Θ_w : Angle de contact avec l'eau ; Θ_f : Angle de contact avec formamide ; Θ_d : Angle de contact avec diiodométhane ;

Annexe 3 : Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L

| Bactérie | Verre | | | 304L | | | 304 | | | 316L | | |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| E.coli 13 | -1,94 | 30,38 | 28,44 | -3,59 | 29,79 | 26,20 | -5,99 | -15,10 | -21,09 | -4,31 | -21,24 | -25,55 |
| E.coli 19 | -1,85 | 12,54 | 10,70 | -3,42 | 11,70 | 8,28 | -5,72 | -33,05 | -38,76 | -4,11 | -35,73 | -39,84 |
| E.coli 64 | -1,39 | 10,32 | 8,93 | -2,57 | 9,48 | 6,90 | -4,30 | -34,10 | -38,40 | -3,09 | -36,35 | -39,44 |
| E.coli 76 | -0,56 | 27,48 | 26,92 | -1,03 | 26,97 | 25,94 | -1,73 | -12,40 | -14,13 | -1,24 | -17,95 | -19,19 |
| E.coli 65 | -0,55 | 44,69 | 44,14 | -1,02 | 44,53 | 43,51 | -1,71 | 10,03 | 8,32 | -1,23 | 1,18 | -0,05 |
| E.coli 38 | -2,52 | -8,88 | -11,40 | -4,66 | -9,99 | -14,66 | -7,79 | -53,60 | -61,38 | -5,60 | -52,13 | -57,73 |
| E.coli EI1 | -1,89 | -11,95 | -13,84 | -3,51 | -13,09 | -16,60 | -5,85 | -56,43 | -62,29 | -4,21 | -54,37 | -58,58 |
| E.coli EI2 | -0,50 | 29,61 | 29,12 | -0,93 | 29,28 | 28,35 | -1,55 | -3,86 | -5,41 | -1,11 | -9,79 | -10,90 |
| E.coli EI3 | 0,13 | 27,72 | 27,85 | 0,24 | 27,55 | 27,79 | 0,40 | 2,65 | 3,05 | 0,29 | -2,86 | -2,57 |
| E.coli EI4 | -0,61 | 25,91 | 25,29 | -1,14 | 25,69 | 24,55 | -1,90 | -0,03 | -1,93 | -1,37 | -5,19 | -6,56 |
| E.coli EM3 | -0,58 | 10,23 | 9,65 | -1,08 | 9,45 | 8,37 | -1,80 | -31,47 | -33,27 | -1,30 | -33,68 | -34,98 |
| E.coli EM4 | -2,13 | 25,68 | 23,55 | -3,95 | 25,56 | 21,61 | -6,59 | 4,35 | -2,24 | -4,74 | -0,74 | -5,48 |

Annexe 4 : Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *salmonelle* sur le verre et les aciers inoxydables 304, 304L et 316L

| Bactérie | Verre | | | 304L | | | 304 | | | 316L | | |
|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| <i>S. muenster</i> | -2,77 | 46,86 | 44,09 | -5,13 | 46,76 | 41,62 | -8,57 | 13,23 | 4,66 | -6,17 | 3,97 | -2,20 |
| <i>S. newport</i> | -2,98 | 38,44 | 35,47 | -5,52 | 38,09 | 32,58 | -9,21 | -1,18 | -10,39 | -6,63 | -8,84 | -15,47 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,15 | 46,42 | 46,27 | -0,27 | 46,21 | 45,94 | -0,46 | 8,25 | 7,80 | -0,33 | -0,95 | -1,28 |
| <i>S. infantis</i> | -2,76 | 41,40 | 38,65 | -5,11 | 41,10 | 35,99 | -8,54 | 2,07 | -6,47 | -6,14 | -6,17 | -12,31 |
| <i>S. mbandaka</i> | -1,85 | 33,36 | 31,51 | -3,44 | 32,84 | 29,40 | -5,74 | -10,66 | -16,40 | -4,13 | -17,37 | -21,50 |

Annexe 5 : Caractères physicochimiques des surface du verre et des aciers inoxydables 304, 304L et 316L traités par l'hypochlorite de sodium à 6° ; 8° ; 10° ; 12° ; 14° ; 16° et 18°Chl.

| Supports | Concentrations (°Chl) | Angle de contact (°) | | | Composantes de Van der Waals (γ^{LW}), composantes donneurs d'électrons (γ^-) et d'accepteurs d'électrons (γ^+) en (mJm^{-2}) | | | ΔG_{iwi} (mJm^{-2}) |
|----------|-----------------------|----------------------|------------|------------|--|------------|------------|---------------------------------|
| | | Θ_w | Θ_f | Θ_d | γ^{LW} | γ^+ | γ^- | |
| Verre | 0° | 36,1(2,2) | 46,2 (5,1) | 59,5 (2,9) | 28,7 | 0,7 | 54,9 | 38,6 |
| | 6° | 57,9 (3,2) | 67,4 (4,1) | 56,5 (3,2) | 3,5 | 0,4 | 44,1 | 8,9 |
| | 8° | 69,5 (2,3) | 68,8 (4,5) | 32,7 (2,4) | 43 | 2,1 | 26,5 | 14,8 |
| | 10° | 72,7 (4,1) | 38,1 (1,9) | 47,8 (1,8) | 35,4 | 3,5 | 4,1 | 7,6 |
| | 12° | 66,8 (4,2) | 59,7 (3,4) | 23,9 (2,3) | 46,4 | 0,9 | 22,3 | 8,8 |
| | 14° | 20,5 (5,1) | 29,9 (3,3) | 24,0 (3,9) | 46,4 | 0 | 59 | 0,6 |
| | 18° | 18,8 (4,5) | 19,8 (5,5) | 48,3 (5,1) | 35,1 | 1,8 | 52,5 | 19,6 |
| 304L | 0° | 27,7 (4,9) | 34,0 (2,7) | 47,5 (2,4) | 35,5 | 0,6 | 53,8 | 35,6 |
| | 6° | 64,0 (2,7) | 74,4 (2,3) | 38,8 (0,1) | 40,1 | 3,8 | 42,6 | 12,6 |
| | 8° | 87,9 (1,7) | 72,6 (0,0) | 56,4 (0,5) | 30,5 | 0,0 | 6,0 | -52,9 |
| | 10° | 83,4 (1,5) | 89,9 (0,3) | 51,4 (1,7) | 33,4 | 5,2 | 25,2 | -2,7 |
| | 12° | 74,0 (0,7) | 68,7 (3,3) | 40,7 (1,9) | 39,1 | 0,9 | 19,4 | -15,5 |
| | 14° | 15,5 (3,6) | 15,7 (2,3) | 27,5 (3,1) | 45,1 | 0,4 | 53,9 | 31,9 |
| | 18° | 75,2 (4,0) | 89,4 (4,9) | 51,9 (5,3) | 33,1 | 6,4 | 39,7 | 10,2 |
| 304 | 0° | 80,2 (2,9) | 60,2 (3,0) | 23,2 (0,5) | 46,6 | 0,2 | 7,0 | -53,1 |
| | 6° | 59,8 (3,5) | 67,7 (4,2) | 42,3 (2,6) | 38,4 | 1,7 | 41,7 | 16,5 |
| | 8° | 60,5 (4,9) | 72,9 (0,7) | 29,2 (3,4) | 44,5 | 5,2 | 47,9 | 12,7 |
| | 10° | 74,7 (3,5) | 79,8 (5,3) | 50,8 (3,3) | 33,8 | 2,6 | 29,0 | 2,0 |
| | 12° | 69,0 (5,3) | 49,7 (4,2) | 48,8 (0,6) | 34,9 | 0,9 | 11,9 | -29,5 |
| | 14° | 66,3 (2,6) | 56,1 (2,6) | 42,3 (4,7) | 38,4 | 0,0 | 19,6 | -17,3 |
| | 18° | 38,9 (0,5) | 39,2 (0,5) | 30,4 (3,5) | 44,0 | 0,0 | 45,1 | 25,8 |
| 316L | 0° | 6,4 (0,8) | 4,6 (3,4) | 54,1 (5,7) | 31,9 | 3,5 | 53,7 | 27,1 |
| | 6° | 74,9 (1,0) | 44,4 (3,2) | 41,6 (1,7) | 38,7 | 1,6 | 4,7 | -48,6 |
| | 8° | 79,3 (1,0) | 84,1 (1,7) | 44,1 (1,4) | 37,4 | 4,8 | 26,2 | -3,4 |
| | 10° | 69,6 (0,8) | 89,7 (1,5) | 46,1 (5,1) | 36,3 | 9,3 | 52,5 | 13,8 |
| | 12° | 80,0 (4,2) | 69,4 (0,9) | 42,7 (1,8) | 38,2 | 0,5 | 12,3 | -31,4 |
| | 14° | 54,8 (1,9) | 35,9 (3,7) | 32,0 (4,8) | 43,3 | 8,9 | 65,8 | 16,4 |
| | 18° | 44,3 (1,3) | 60,6 (0,6) | 36,8 (4,1) | 41,1 | 0,2 | 34,9 | 8,5 |
| | 16° | 6,0 (3,6) | 76,7 (2,3) | 24,8 (2,6) | 46,1 | 3,9 | 109,5 | 60,8 |
| | 18° | 3,6 (2,0) | 1,8 (1,1) | 53,5 (1,4) | 32,2 | 3,4 | 54,1 | 27,5 |

* L'écart-type est donné entre parenthèse

Θ_w : Angle de contact avec l'eau Θ_f : Angle de contact avec formamide Θ_d : Angle de contact avec diiodométhane ;

Annexe 6 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur le verre en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| Bactérie | verre | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | Temoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| E.coli 13 | -1,94 | 30,38 | 28,44 | -2,38 | 23,26 | 20,88 | -5,24 | 7,45 | 2,21 | -3,56 | -23,67 | -27,23 | -3,50 | 27,90 | 24,40 | -5,95 | 34,45 | 28,49 | -5,96 | 4,21 | -1,75 | -6,45 | 31,81 | 25,36 |
| E.coli 19 | -1,85 | 12,54 | 10,70 | -2,27 | 4,89 | 2,62 | -5,00 | -7,30 | -12,29 | -3,40 | -35,63 | -39,03 | -3,34 | 12,14 | 8,81 | -5,68 | 13,19 | 7,51 | -5,68 | -12,45 | -18,13 | -6,15 | 12,50 | 6,35 |
| E.coli 64 | -1,39 | 10,32 | 8,93 | -1,71 | 2,81 | 1,10 | -3,76 | -8,68 | -12,44 | -2,55 | -35,98 | -38,54 | -2,51 | 10,15 | 7,64 | -4,27 | 10,58 | 6,31 | -4,27 | -13,90 | -18,17 | -4,63 | 10,12 | 5,49 |
| E.coli 76 | -0,56 | 27,48 | 26,92 | -0,68 | 21,26 | 20,57 | -1,51 | 7,23 | 5,72 | -1,03 | -20,20 | -21,22 | -1,01 | 25,20 | 24,20 | -1,71 | 31,21 | 29,49 | -1,72 | 4,47 | 2,76 | -1,86 | 28,81 | 26,95 |
| E.coli 65 | -0,55 | 44,69 | 44,14 | -0,68 | 39,87 | 39,19 | -1,50 | 23,43 | 21,93 | -1,02 | -3,72 | -4,74 | -1,00 | 40,29 | 39,29 | -1,70 | 51,92 | 50,22 | -1,70 | 23,25 | 21,55 | -1,84 | 47,56 | 45,71 |
| E.coli 38 | -2,52 | -8,88 | -11,40 | -3,09 | -16,98 | -20,07 | -6,81 | -24,62 | -31,43 | -4,63 | -49,03 | -53,65 | -4,55 | -6,80 | -11,35 | -7,74 | -12,31 | -20,05 | -7,75 | -31,92 | -39,67 | -8,39 | -10,66 | -19,05 |
| E.coli EI1 | -1,89 | -11,95 | -13,84 | -2,32 | -20,10 | -22,42 | -5,12 | -27,06 | -32,18 | -3,48 | -50,84 | -54,32 | -3,42 | -9,52 | -12,93 | -5,81 | -15,95 | -21,77 | -5,82 | -34,66 | -40,48 | -6,30 | -13,98 | -20,28 |
| E.coli EI2 | -0,50 | 29,61 | 29,12 | -0,61 | 24,58 | 23,96 | -1,35 | 11,46 | 10,11 | -0,92 | -12,60 | -13,52 | -0,90 | 26,94 | 26,04 | -1,54 | 34,00 | 32,46 | -1,54 | 9,85 | 8,31 | -1,67 | 31,27 | 29,60 |
| E.coli EI3 | 0,13 | 27,72 | 27,85 | 0,16 | 24,11 | 24,26 | 0,35 | 13,15 | 13,50 | 0,24 | -5,76 | -5,52 | 0,23 | 25,08 | 25,31 | 0,39 | 32,07 | 32,46 | 0,39 | 12,54 | 12,93 | 0,43 | 29,42 | 29,85 |
| E.coli EI4 | -0,61 | 25,91 | 25,29 | -0,75 | 22,09 | 21,33 | -1,66 | 11,32 | 9,66 | -1,13 | -7,80 | -8,93 | -1,11 | 23,49 | 22,38 | -1,89 | 29,87 | 27,98 | -1,89 | 10,39 | 8,50 | -2,05 | 27,43 | 25,38 |
| E.coli EM3 | -0,58 | 10,23 | 9,65 | -0,71 | 3,20 | 2,48 | -1,57 | -7,70 | -9,27 | -1,07 | -33,42 | -34,49 | -1,05 | 10,01 | 8,96 | -1,79 | 10,58 | 8,79 | -1,79 | -12,54 | -14,33 | -1,94 | 10,09 | 8,15 |
| E.coli EM4 | -2,13 | 25,68 | 23,55 | -2,61 | 22,66 | 20,05 | -5,76 | 12,92 | 7,16 | -3,92 | -3,50 | -7,42 | -3,85 | 23,18 | 19,34 | -6,55 | 29,78 | 23,24 | -6,55 | 12,62 | 6,06 | -7,10 | 27,30 | 20,20 |

Annexe 7: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| Bactérie | 304L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | Temoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| E.coli 13 | -3,59 | 29,79 | 26,20 | -4,63 | 19,85 | 15,22 | -2,39 | -16,17 | -18,56 | -3,59 | 4,72 | 1,13 | -4,42 | 1,09 | -3,33 | -5,69 | 30,13 | 24,43 | -3,02 | 16,68 | 13,65 | -5,17 | 28,12 | 22,95 |
| E.coli 19 | -3,42 | 11,70 | 8,28 | -4,41 | 6,83 | 2,42 | -2,28 | -35,60 | -37,88 | -3,42 | -6,48 | -9,90 | -4,21 | -15,36 | -19,57 | -5,43 | 11,47 | 6,04 | -2,88 | 6,04 | 3,16 | -4,93 | 9,98 | 5,05 |
| E.coli 64 | -2,57 | 9,48 | 6,90 | -3,32 | 5,27 | 1,95 | -1,72 | -36,74 | -38,46 | -2,57 | -7,50 | -10,08 | -3,17 | -16,71 | -19,88 | -4,08 | 9,19 | 5,11 | -2,17 | 4,75 | 2,59 | -3,70 | 7,79 | 4,08 |
| E.coli 76 | -1,03 | 26,97 | 25,94 | -1,33 | 18,02 | 16,68 | -0,69 | -13,27 | -13,96 | -1,03 | 4,66 | 3,63 | -1,27 | 1,73 | 0,46 | -1,64 | 27,29 | 25,66 | -0,87 | 15,12 | 14,25 | -1,49 | 25,51 | 24,02 |
| E.coli 65 | -1,02 | 44,53 | 43,51 | -1,32 | 30,83 | 29,51 | -0,68 | 10,99 | 10,31 | -1,02 | 17,07 | 16,04 | -1,26 | 20,62 | 19,35 | -1,62 | 45,47 | 43,85 | -0,86 | 25,54 | 24,68 | -1,47 | 43,32 | 41,84 |
| E.coli 38 | -4,66 | -9,99 | -14,66 | -6,01 | -8,74 | -14,76 | -3,11 | -57,84 | -60,95 | -4,66 | -19,60 | -24,27 | -5,74 | -34,52 | -40,26 | -7,40 | -10,89 | -18,29 | -3,93 | -6,70 | -10,62 | -6,71 | -11,74 | -18,46 |
| E.coli EI1 | -3,51 | -13,09 | -16,60 | -4,52 | -10,97 | -15,49 | -2,34 | -60,92 | -63,25 | -3,51 | -21,45 | -24,96 | -4,31 | -37,20 | -41,52 | -5,56 | -14,09 | -19,65 | -2,95 | -8,52 | -11,47 | -5,05 | -14,85 | -19,89 |
| E.coli EI2 | -0,93 | 29,28 | 28,35 | -1,19 | 19,90 | 18,70 | -0,62 | -4,05 | -4,67 | -0,93 | 8,01 | 7,08 | -1,14 | 7,46 | 6,32 | -1,47 | 29,76 | 28,29 | -0,78 | 16,60 | 15,82 | -1,33 | 28,07 | 26,73 |
| E.coli EI3 | 0,24 | 27,55 | 27,79 | 0,31 | 18,94 | 19,25 | 0,16 | 2,97 | 3,13 | 0,24 | 9,47 | 9,70 | 0,29 | 10,68 | 10,98 | 0,38 | 28,08 | 28,46 | 0,20 | 15,73 | 15,93 | 0,34 | 26,66 | 27,00 |
| E.coli EI4 | -1,14 | 25,69 | 24,55 | -1,47 | 17,58 | 16,11 | -0,76 | 0,07 | -0,69 | -1,14 | 8,06 | 6,92 | -1,40 | 8,51 | 7,10 | -1,81 | 26,15 | 24,35 | -0,96 | 14,62 | 13,67 | -1,64 | 24,76 | 23,12 |
| E.coli EM3 | -1,08 | 9,45 | 8,37 | -1,39 | 5,35 | 3,96 | -0,72 | -33,90 | -34,62 | -1,08 | -6,70 | -7,78 | -1,33 | -15,19 | -16,51 | -1,71 | 9,20 | 7,49 | -0,91 | 4,79 | 3,88 | -1,55 | 7,87 | 6,31 |
| E.coli EM4 | -3,95 | 25,56 | 21,61 | -5,09 | 17,65 | 12,56 | -2,63 | 4,80 | 2,17 | -3,95 | 9,37 | 5,42 | -4,86 | 11,02 | 6,16 | -6,26 | 26,08 | 19,83 | -3,32 | 14,63 | 11,31 | -5,68 | 24,81 | 19,13 |

Annexe 8: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| 304 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Bactérie | Temoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| E.coli 13 | -5,99 | -15,10 | -21,09 | -5,99 | 20,37 | 14,38 | -5,55 | 23,09 | 17,53 | -3,17 | 9,39 | 6,22 | -3,43 | -8,20 | -11,63 | -4,23 | 2,94 | -1,29 | -5,45 | 25,14 | 19,69 | -2,72 | 27,79 | 25,07 |
| E.coli 19 | -5,72 | -33,05 | -38,76 | -5,72 | 4,67 | -1,04 | -5,29 | 11,19 | 5,90 | -3,02 | -4,75 | -7,77 | -3,27 | -24,45 | -27,72 | -4,04 | -17,40 | -21,44 | -5,20 | 4,14 | -1,06 | -2,59 | 14,10 | 11,51 |
| E.coli 64 | -4,30 | -34,10 | -38,40 | -4,30 | 2,88 | -1,42 | -3,98 | 9,64 | 5,65 | -2,27 | -6,13 | -8,40 | -2,46 | -25,54 | -28,01 | -3,04 | -19,12 | -22,16 | -3,91 | 1,79 | -2,12 | -1,95 | 12,28 | 10,33 |
| E.coli 76 | -1,73 | -12,40 | -14,13 | -1,73 | 18,60 | 16,87 | -1,60 | 20,80 | 19,21 | -0,91 | 8,90 | 7,98 | -0,99 | -6,43 | -7,42 | -1,22 | 3,54 | 2,32 | -1,57 | 23,04 | 21,47 | -0,78 | 25,01 | 24,23 |
| E.coli 65 | -1,71 | 10,03 | 8,32 | -1,71 | 34,46 | 32,75 | -1,58 | 31,96 | 30,38 | -0,90 | 24,18 | 23,28 | -0,98 | 13,26 | 12,28 | -1,21 | 26,72 | 25,51 | -1,56 | 44,49 | 42,94 | -0,78 | 37,71 | 36,93 |
| E.coli 38 | -7,79 | -53,60 | -61,38 | -7,79 | -14,04 | -21,83 | -7,22 | -3,15 | -10,37 | -4,12 | -21,40 | -25,52 | -4,46 | -43,17 | -47,63 | -5,50 | -41,14 | -46,64 | -7,08 | -20,86 | -27,94 | -3,53 | -2,44 | -5,97 |
| E.coli EI1 | -5,85 | -56,43 | -62,29 | -5,85 | -16,71 | -22,56 | -5,42 | -5,21 | -10,63 | -3,10 | -23,76 | -26,85 | -3,35 | -45,77 | -49,12 | -4,13 | -44,47 | -48,60 | -5,32 | -24,41 | -29,73 | -2,65 | -4,81 | -7,47 |
| E.coli EI2 | -1,55 | -3,86 | -5,41 | -1,55 | 21,37 | 19,82 | -1,43 | 21,83 | 20,40 | -0,82 | 12,64 | 11,83 | -0,89 | 0,53 | -0,35 | -1,09 | 10,41 | 9,31 | -1,41 | 27,04 | 25,63 | -0,70 | 26,02 | 25,32 |
| E.coli EI3 | 0,40 | 2,65 | 3,05 | 0,40 | 20,88 | 21,28 | 0,37 | 20,05 | 20,42 | 0,21 | 13,85 | 14,06 | 0,23 | 5,42 | 5,65 | 0,28 | 14,09 | 14,37 | 0,36 | 26,77 | 27,13 | 0,18 | 23,74 | 23,92 |
| E.coli EI4 | -1,90 | -0,03 | -1,93 | -1,90 | 19,16 | 17,26 | -1,76 | 18,89 | 17,13 | -1,01 | 12,14 | 11,13 | -1,09 | 3,10 | 2,01 | -1,34 | 11,43 | 10,09 | -1,73 | 24,43 | 22,70 | -0,86 | 22,44 | 21,57 |
| E.coli EM3 | -1,80 | -31,47 | -33,27 | -1,80 | 3,18 | 1,38 | -1,67 | 9,41 | 7,74 | -0,95 | -5,32 | -6,28 | -1,03 | -23,49 | -24,52 | -1,27 | -17,33 | -18,60 | -1,64 | 2,32 | 0,69 | -0,82 | 11,94 | 11,13 |
| E.coli EM4 | -6,59 | 4,35 | -2,24 | -6,59 | 19,61 | 13,02 | -6,10 | 18,45 | 12,35 | -3,48 | 13,44 | 9,96 | -3,77 | 6,51 | 2,74 | -4,65 | 14,37 | 9,72 | -5,99 | 25,24 | 19,25 | -2,99 | 21,81 | 18,82 |

Annexe 9: Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| 316L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| Bactérie | Temoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| E.coli 13 | -4,31 | -21,24 | -25,55 | -4,31 | 5,78 | 1,47 | -3,78 | 24,86 | 21,09 | -4,19 | -7,25 | -11,44 | -5,31 | 16,56 | 11,26 | -4,84 | 58,05 | 53,21 | -5,90 | 33,42 | 27,52 | -2,80 | 28,09 | 25,28 |
| E.coli 19 | -4,11 | -35,73 | -39,84 | -4,11 | -5,90 | -10,01 | -3,60 | 16,02 | 12,42 | -3,99 | -24,40 | -28,39 | -5,06 | -2,53 | -7,59 | -4,61 | 43,71 | 39,09 | -5,62 | 23,99 | 18,37 | -2,67 | 14,29 | 11,62 |
| E.coli 64 | -3,09 | -36,35 | -39,44 | -3,09 | -6,99 | -10,08 | -2,71 | 14,67 | 11,96 | -3,00 | -25,60 | -28,60 | -3,81 | -4,50 | -8,30 | -3,47 | 41,05 | 37,58 | -4,23 | 22,37 | 18,14 | -2,01 | 12,45 | 10,45 |
| E.coli 76 | -1,24 | -17,95 | -19,19 | -1,24 | 5,62 | 4,38 | -1,09 | 22,22 | 21,13 | -1,21 | -5,56 | -6,76 | -1,53 | 15,42 | 13,89 | -1,39 | 51,58 | 50,18 | -1,70 | 29,75 | 28,05 | -0,81 | 25,28 | 24,47 |
| E.coli 65 | -1,23 | 1,18 | -0,05 | -1,23 | 18,47 | 17,24 | -1,08 | 29,65 | 28,57 | -1,20 | 15,08 | 13,88 | -1,51 | 35,62 | 34,11 | -1,38 | 61,64 | 60,26 | -1,68 | 36,90 | 35,22 | -0,80 | 38,07 | 37,27 |
| E.coli 38 | -5,60 | -52,13 | -57,73 | -5,60 | -19,61 | -25,22 | -4,91 | 5,19 | 0,29 | -5,44 | -44,20 | -49,64 | -6,90 | -25,10 | -32,00 | -6,29 | 25,75 | 19,46 | -7,66 | 12,29 | 4,63 | -3,64 | -2,37 | -6,01 |
| E.coli EI1 | -4,21 | -54,37 | -58,58 | -4,21 | -21,55 | -25,76 | -3,69 | 3,62 | -0,07 | -4,09 | -46,95 | -51,04 | -5,18 | -28,30 | -33,48 | -4,72 | 23,10 | 18,38 | -5,76 | 10,58 | 4,82 | -2,74 | -4,76 | -7,50 |
| E.coli EI2 | -1,11 | -9,79 | -10,90 | -1,11 | 8,99 | 7,88 | -0,97 | 21,90 | 20,93 | -1,08 | 1,60 | 0,52 | -1,37 | 19,94 | 18,57 | -1,25 | 48,59 | 47,34 | -1,52 | 28,45 | 26,93 | -0,72 | 26,28 | 25,56 |
| E.coli EI3 | 0,29 | -2,86 | -2,57 | 0,29 | 10,36 | 10,64 | 0,25 | 19,16 | 19,41 | 0,28 | 6,50 | 6,78 | 0,35 | 20,85 | 21,20 | 0,32 | 40,87 | 41,19 | 0,39 | 24,25 | 24,64 | 0,19 | 23,97 | 24,16 |
| E.coli EI4 | -1,37 | -5,19 | -6,56 | -1,37 | 8,90 | 7,53 | -1,20 | 18,44 | 17,24 | -1,33 | 4,07 | 2,74 | -1,68 | 18,61 | 16,93 | -1,54 | 40,04 | 38,50 | -1,87 | 23,61 | 21,74 | -0,89 | 22,66 | 21,77 |
| E.coli EM3 | -1,30 | -33,68 | -34,98 | -1,30 | -6,20 | -7,50 | -1,13 | 14,04 | 12,91 | -1,26 | -23,51 | -24,77 | -1,59 | -3,64 | -5,23 | -1,45 | 38,97 | 37,52 | -1,77 | 21,29 | 19,52 | -0,84 | 12,12 | 11,27 |
| E.coli EM4 | -4,74 | -0,74 | -5,48 | -4,74 | 10,18 | 5,44 | -4,15 | 17,34 | 13,19 | -4,60 | 7,54 | 2,93 | -5,83 | 19,98 | 14,15 | -5,32 | 36,46 | 31,15 | -6,48 | 21,74 | 15,26 | -3,08 | 22,02 | 18,94 |

Annexe 10 : Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur le verre en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| Bactéries | verre | | | | | | | | | | | |
|------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| E.coli 13 | -1,94 | 30,38 | 28,44 | -4,02 | 2,98 | -1,04 | 0,31 | 9,83 | 10,14 | -6,47 | 31,88 | 25,41 |
| E.coli 19 | -1,85 | 12,54 | 10,70 | -3,83 | -9,86 | -13,69 | 0,29 | -2,83 | -2,54 | -6,17 | 12,56 | 6,39 |
| E.coli 64 | -1,39 | 10,32 | 8,93 | -2,88 | -10,97 | -13,86 | 0,22 | -4,11 | -3,89 | -4,64 | 10,18 | 5,54 |
| E.coli 76 | -0,56 | 27,48 | 26,92 | -1,16 | 3,22 | 2,06 | 0,09 | 9,22 | 9,30 | -1,86 | 28,86 | 27,00 |
| E.coli 65 | -0,55 | 44,69 | 44,14 | -1,15 | 17,72 | 16,58 | 0,09 | 22,75 | 22,84 | -1,85 | 47,61 | 45,77 |
| E.coli 38 | -2,52 | -8,88 | -11,40 | -5,23 | -24,87 | -30,09 | 0,40 | -17,79 | -17,39 | -8,40 | -10,62 | -19,02 |
| E.coli EI1 | -1,89 | -11,95 | -13,84 | -3,93 | -26,97 | -30,90 | 0,30 | -19,90 | -19,60 | -6,32 | -13,93 | -20,25 |
| E.coli EI2 | -0,50 | 29,61 | 29,12 | -1,04 | 7,40 | 6,36 | 0,08 | 12,38 | 12,45 | -1,67 | 31,32 | 29,65 |
| E.coli EI3 | 0,13 | 27,72 | 27,85 | 0,27 | 9,52 | 9,78 | -0,02 | 13,20 | 13,18 | 0,43 | 29,46 | 29,89 |
| E.coli EI4 | -0,61 | 25,91 | 25,29 | -1,28 | 7,86 | 6,58 | 0,10 | 11,69 | 11,78 | -2,05 | 27,47 | 25,42 |
| E.coli EM3 | -0,58 | 10,23 | 9,65 | -1,21 | -9,91 | -11,12 | 0,09 | -3,47 | -3,38 | -1,94 | 10,15 | 8,20 |
| E.coli EM4 | -2,13 | 25,68 | 23,55 | -4,42 | 9,60 | 5,18 | 0,34 | 12,71 | 13,05 | -7,11 | 27,33 | 20,22 |

Annexe 11: Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| Bactéries | 304L | | | | | | | | | | | |
|------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| E.coli 13 | -3,59 | 29,79 | 26,20 | -0,16 | -23,60 | -23,75 | 0,50 | -6,15 | -5,64 | 2,72 | 22,22 | 24,93 |
| E.coli 19 | -3,42 | 11,70 | 8,28 | -0,15 | -39,16 | -39,31 | 0,48 | -24,43 | -23,95 | 2,59 | 16,39 | 18,99 |
| E.coli 64 | -2,57 | 9,48 | 6,90 | -0,11 | -39,81 | -39,92 | 0,36 | -25,75 | -25,39 | 1,95 | 15,35 | 17,30 |
| E.coli 76 | -1,03 | 26,97 | 25,94 | -0,04 | -19,96 | -20,01 | 0,15 | -4,53 | -4,39 | 0,78 | 19,76 | 20,54 |
| E.coli 65 | -1,02 | 44,53 | 43,51 | -0,04 | 0,67 | 0,62 | 0,14 | 17,29 | 17,43 | 0,78 | 23,99 | 24,77 |
| E.coli 38 | -4,66 | -9,99 | -14,66 | -0,20 | -56,76 | -56,96 | 0,66 | -45,58 | -44,92 | 3,53 | 9,13 | 12,67 |
| E.coli EI1 | -3,51 | -13,09 | -16,60 | -0,15 | -59,16 | -59,31 | 0,49 | -48,52 | -48,03 | 2,65 | 8,07 | 10,72 |
| E.coli EI2 | -0,93 | 29,28 | 28,35 | -0,04 | -11,09 | -11,13 | 0,13 | 2,87 | 3,00 | 0,70 | 18,73 | 19,43 |
| E.coli EI3 | 0,24 | 27,55 | 27,79 | 0,01 | -3,51 | -3,50 | -0,03 | 7,81 | 7,77 | -0,18 | 15,85 | 15,67 |
| E.coli EI4 | -1,14 | 25,69 | 24,55 | -0,05 | -6,03 | -6,07 | 0,16 | 5,25 | 5,41 | 0,86 | 15,48 | 16,35 |
| E.coli EM3 | -1,08 | 9,45 | 8,37 | -0,05 | -36,90 | -36,94 | 0,15 | -23,62 | -23,46 | 0,82 | 14,59 | 15,41 |
| E.coli EM4 | -3,95 | 25,56 | 21,61 | -0,17 | -1,17 | -1,34 | 0,55 | 8,78 | 9,34 | 2,99 | 14,17 | 17,16 |

Annexe 12 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| 304 | | | | | | | | | | | | |
|------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| Bactéries | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| E.coli 13 | -5,60 | 5,86 | 0,27 | -1,24 | 27,36 | 26,12 | -3,37 | 34,08 | 30,71 | -5,35 | 47,21 | 41,86 |
| E.coli 19 | -5,34 | -10,25 | -15,59 | -1,18 | 15,37 | 14,19 | -3,21 | 13,06 | 9,85 | -5,10 | 28,45 | 23,35 |
| E.coli 64 | -4,01 | -11,70 | -15,71 | -0,89 | 13,69 | 12,81 | -2,42 | 10,48 | 8,06 | -3,84 | 25,72 | 21,88 |
| E.coli 76 | -1,61 | 5,90 | 4,29 | -0,36 | 24,55 | 24,19 | -0,97 | 30,87 | 29,90 | -1,54 | 42,28 | 40,74 |
| E.coli 65 | -1,60 | 23,86 | 22,26 | -0,35 | 35,34 | 34,98 | -0,96 | 51,34 | 50,38 | -1,53 | 58,68 | 57,15 |
| E.coli 38 | -7,27 | -29,13 | -36,40 | -1,61 | 0,82 | -0,79 | -4,38 | -12,15 | -16,53 | -6,95 | 5,58 | -1,37 |
| E.coli EI1 | -5,46 | -31,78 | -37,25 | -1,21 | -1,27 | -2,48 | -3,29 | -15,75 | -19,04 | -5,23 | 2,28 | -2,95 |
| E.coli EI2 | -1,44 | 10,85 | 9,40 | -0,32 | 25,02 | 24,70 | -0,87 | 33,63 | 32,76 | -1,38 | 42,40 | 41,02 |
| E.coli EI3 | 0,37 | 13,12 | 13,49 | 0,08 | 22,46 | 22,55 | 0,22 | 31,72 | 31,94 | 0,35 | 37,59 | 37,95 |
| E.coli EI4 | -1,78 | 11,07 | 9,30 | -0,39 | 21,37 | 20,98 | -1,07 | 29,55 | 28,48 | -1,70 | 35,97 | 34,27 |
| E.coli EM3 | -1,68 | -10,49 | -12,17 | -0,37 | 13,22 | 12,85 | -1,01 | 10,48 | 9,47 | -1,61 | 24,72 | 23,11 |
| E.coli EM4 | -6,15 | 13,05 | 6,89 | -1,36 | 20,52 | 19,16 | -3,70 | 29,45 | 25,75 | -5,88 | 34,19 | 28,31 |

Annexe 13 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de *Escherichia coli* sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| 316L | | | | | | | | | | | | |
|------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| Bactéries | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| E.coli 13 | -4,31 | -21,24 | -25,55 | -6,75 | 32,50 | 25,75 | -5,96 | 30,60 | 24,64 | -3,38 | 26,48 | 23,10 |
| E.coli 19 | -4,11 | -35,73 | -39,84 | -6,44 | 12,60 | 6,16 | -5,68 | 11,87 | 6,18 | -3,22 | 11,72 | 8,50 |
| E.coli 64 | -3,09 | -36,35 | -39,44 | -4,84 | 10,16 | 5,31 | -4,27 | 9,57 | 5,29 | -2,42 | 9,85 | 7,42 |
| E.coli 76 | -1,24 | -17,95 | -19,19 | -1,94 | 29,44 | 27,49 | -1,72 | 27,71 | 26,00 | -0,97 | 23,92 | 22,94 |
| E.coli 65 | -1,23 | 1,18 | -0,05 | -1,93 | 48,79 | 46,86 | -1,70 | 45,93 | 44,23 | -0,97 | 38,01 | 37,04 |
| E.coli 38 | -5,60 | -52,13 | -57,73 | -8,78 | -11,27 | -20,04 | -7,75 | -10,60 | -18,34 | -4,39 | -6,04 | -10,43 |
| E.coli EI1 | -4,21 | -54,37 | -58,58 | -6,59 | -14,68 | -21,27 | -5,82 | -13,81 | -19,63 | -3,30 | -8,58 | -11,88 |
| E.coli EI2 | -1,11 | -9,79 | -10,90 | -1,74 | 32,01 | 30,27 | -1,54 | 30,14 | 28,60 | -0,87 | 25,50 | 24,62 |
| E.coli EI3 | 0,29 | -2,86 | -2,57 | 0,45 | 30,16 | 30,61 | 0,39 | 28,39 | 28,79 | 0,22 | 23,68 | 23,91 |
| E.coli EI4 | -1,37 | -5,19 | -6,56 | -2,14 | 28,11 | 25,96 | -1,89 | 26,46 | 24,57 | -1,07 | 22,21 | 21,13 |
| E.coli EM3 | -1,30 | -33,68 | -34,98 | -2,03 | 10,14 | 8,11 | -1,79 | 9,55 | 7,76 | -1,02 | 9,70 | 8,68 |
| E.coli EM4 | -4,74 | -0,74 | -5,48 | -7,42 | 28,00 | 20,57 | -6,55 | 26,35 | 19,80 | -3,72 | 21,88 | 18,17 |

Annexe 14: Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur le verre en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| Bactérie | verre | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| <i>S. muenster</i> | -3,70 | 0,48 | -3,21 | -4,54 | 3,47 | -1,07 | -10,01 | 6,94 | -3,06 | -6,80 | 16,64 | 9,84 | -6,68 | 0,03 | -6,65 | -11,37 | 1,23 | -10,14 | -11,38 | 9,40 | -1,98 | -12,32 | 0,92 | -11,40 |
| <i>S. newport</i> | -4,58 | -0,56 | -5,14 | -5,63 | 2,57 | -3,07 | -12,42 | 6,46 | -5,96 | -8,44 | 16,87 | 8,43 | -8,29 | -0,91 | -9,19 | -14,10 | 0,03 | -14,08 | -14,12 | 8,94 | -5,18 | -15,29 | -0,18 | -15,47 |
| <i>S. kentucky</i> | -4,88 | -5,59 | -10,47 | -5,99 | -1,85 | -7,84 | -13,21 | 3,98 | -9,23 | -8,98 | 17,70 | 8,73 | -8,82 | -5,46 | -14,27 | -15,00 | -5,81 | -20,81 | -15,02 | 6,55 | -8,47 | -16,26 | -5,53 | -21,79 |
| <i>S. Infantis</i> | -4,09 | -14,03 | -18,12 | -5,02 | -9,40 | -14,42 | -11,07 | -0,48 | -11,55 | -7,52 | 18,33 | 10,80 | -7,39 | -13,07 | -20,45 | -12,57 | -15,62 | -28,19 | -12,59 | 2,11 | -10,48 | -13,63 | -14,52 | -28,15 |
| <i>S. mbandaka</i> | -5,51 | -14,08 | -19,59 | -6,77 | -9,44 | -16,21 | -14,93 | -0,50 | -15,43 | -10,14 | 18,33 | 8,18 | -9,96 | -13,11 | -23,07 | -16,96 | -15,67 | -32,63 | -16,98 | 2,08 | -14,89 | -18,38 | -14,57 | -32,95 |

Annexe 15 : Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de salmonelles sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| Bactérie | 304L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| <i>S. muenster</i> | -5,12 | 46,86 | 41,73 | -6,61 | 32,60 | 25,99 | -3,39 | 14,81 | 11,41 | -5,12 | 18,80 | 13,68 | -6,29 | 23,24 | 16,95 | -8,13 | 47,88 | 39,75 | -4,31 | 26,89 | 22,58 | -7,38 | 45,95 | 38,56 |
| <i>S. newport</i> | -5,51 | 38,15 | 32,64 | -7,10 | 26,10 | 19,00 | -3,65 | -0,97 | -4,61 | -5,51 | 11,60 | 6,09 | -6,76 | 11,95 | 5,19 | -8,74 | 38,82 | 30,08 | -4,63 | 21,65 | 17,02 | -7,93 | 36,88 | 28,95 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,27 | 46,30 | 46,02 | -0,35 | 32,04 | 31,68 | -0,18 | 9,37 | 9,19 | -0,27 | 17,08 | 16,81 | -0,34 | 20,15 | 19,82 | -0,43 | 47,24 | 46,81 | -0,23 | 26,47 | 26,24 | -0,39 | 45,18 | 44,79 |
| <i>S. Infantis</i> | -5,10 | 41,17 | 36,06 | -6,58 | 28,29 | 21,71 | -3,38 | 2,60 | -0,78 | -5,10 | 13,55 | 8,45 | -6,27 | 14,85 | 8,58 | -8,10 | 41,93 | 33,83 | -4,29 | 23,43 | 19,14 | -7,35 | 39,94 | 32,59 |
| <i>S. mbandaka</i> | -3,43 | 32,87 | 29,44 | -4,43 | 22,13 | 17,71 | -2,27 | -11,34 | -13,62 | -3,43 | 7,00 | 3,57 | -4,22 | 4,67 | 0,45 | -5,45 | 33,31 | 27,86 | -2,89 | 18,47 | 15,58 | -4,95 | 31,35 | 26,40 |

Annexe 16 : Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de salmonelles sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| Bactérie | 304 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Témoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| <i>S. muenster</i> | -8,57 | 13,23 | 4,66 | -8,57 | 36,51 | 27,94 | -7,95 | 33,34 | 25,39 | -4,55 | 26,18 | 21,64 | -4,92 | 15,94 | 11,02 | -6,07 | 29,93 | 23,86 | -7,80 | 47,44 | 39,64 | -3,89 | 39,27 | 35,38 |
| <i>S. newport</i> | -9,21 | -1,18 | -10,39 | -9,21 | 28,26 | 19,05 | -8,55 | 28,11 | 19,56 | -4,89 | 17,63 | 12,74 | -5,29 | 3,66 | -1,63 | -6,52 | 16,21 | 9,69 | -8,39 | 36,09 | 27,70 | -4,18 | 33,40 | 29,22 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,46 | 8,25 | 7,80 | -0,46 | 35,48 | 35,03 | -0,42 | 33,33 | 32,91 | -0,24 | 24,38 | 24,14 | -0,26 | 11,99 | 11,72 | -0,32 | 26,28 | 25,96 | -0,42 | 45,85 | 45,43 | -0,21 | 39,38 | 39,17 |
| <i>S. infantis</i> | -8,54 | 2,07 | -6,47 | -8,54 | 30,91 | 22,37 | -7,92 | 30,06 | 22,14 | -4,53 | 20,05 | 15,52 | -4,90 | 6,55 | 1,65 | -6,05 | 19,78 | 13,73 | -7,78 | 39,65 | 31,88 | -3,88 | 35,64 | 31,77 |
| <i>S. mbandaka</i> | -5,74 | -10,66 | -16,40 | -5,74 | 23,17 | 17,43 | -5,33 | 24,99 | 19,67 | -3,05 | 12,21 | 9,16 | -3,30 | -4,37 | -7,67 | -4,07 | 7,38 | 3,31 | -5,23 | 29,04 | 23,82 | -2,61 | 29,92 | 27,32 |

Annexe 17: Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries de salmonelles sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par l'hypochlorite de sodium

| Bactérie | 316L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Témoin | | | 6° | | | 8° | | | 10° | | | 12° | | | 14° | | | 16° | | | 18° | | |
| | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| <i>S. muenster</i> | -6,17 | 3,96 | -2,21 | -6,17 | 20,17 | 14,00 | -5,39 | 30,54 | 25,15 | -6,01 | 18,04 | 12,03 | -7,59 | 37,62 | 30,03 | -6,92 | 38,19 | 31,27 | -8,43 | 62,55 | 54,12 | -4,00 | 39,66 | 35,67 |
| <i>S. newport</i> | -6,63 | -8,83 | -15,45 | -6,63 | 12,84 | 6,21 | -5,79 | 27,64 | 21,84 | -6,46 | 5,19 | -1,26 | -8,16 | 35,44 | 27,28 | -7,44 | 27,15 | 19,72 | -9,06 | 60,19 | 51,13 | -4,29 | 33,75 | 29,45 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,33 | -0,95 | -1,28 | -0,33 | 18,48 | 18,15 | -0,29 | 31,29 | 31,01 | -0,32 | 13,99 | 13,67 | -0,40 | 39,11 | 38,71 | -0,37 | 36,14 | 35,77 | -0,45 | 65,54 | 65,09 | -0,21 | 39,78 | 39,57 |
| <i>S. infantis</i> | -6,14 | -6,15 | -12,30 | -6,14 | 14,85 | 8,71 | -5,37 | 29,05 | 23,68 | -5,98 | 8,26 | 2,27 | -7,57 | 36,90 | 29,33 | -6,90 | 30,40 | 23,51 | -8,39 | 62,36 | 53,97 | -3,98 | 36,01 | 32,03 |
| <i>S. mbandaka</i> | -4,13 | -17,33 | -21,47 | -4,13 | 8,17 | 4,04 | -3,61 | 26,05 | 22,44 | -4,02 | -3,19 | -7,21 | -5,09 | 34,42 | 29,33 | -4,64 | 20,22 | 15,58 | -5,64 | 59,34 | 53,70 | -2,68 | 30,25 | 27,58 |

Annexe 18 : Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur le verre en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| | verre | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| Bactérie | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| <i>S. muenster</i> | -2,77 | 46,86 | 44,09 | -5,75 | 19,71 | 13,96 | 0,44 | 24,56 | 24,99 | -8,54 | 29,09 | 20,55 |
| <i>S. newport</i> | -2,98 | 38,44 | 35,47 | -6,18 | 11,19 | 5,01 | 0,47 | 17,05 | 17,52 | -9,18 | 19,22 | 10,04 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,15 | 46,42 | 46,27 | -0,31 | 17,52 | 17,21 | 0,02 | 23,08 | 23,10 | -0,46 | 26,94 | 26,49 |
| <i>S. infantis</i> | -2,76 | 41,40 | 38,65 | -5,73 | 13,44 | 7,71 | 0,43 | 19,22 | 19,66 | -8,51 | 21,99 | 13,48 |
| <i>S. mbandaka</i> | -1,85 | 33,36 | 31,51 | -3,85 | 5,72 | 1,87 | 0,29 | 12,32 | 12,61 | -5,72 | 12,96 | 7,23 |

Annexe 19 : Calcul des énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur l'acier inoxydable 304L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| | 304L | | | | | | | | | | | |
|--------------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|--------------|--------------|-----------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| Bactérie | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ | ΔGLW | ΔGAB | $\Delta GTotal$ |
| <i>S. muenster</i> | -5,13 | 46,76 | 41,62 | -0,22 | 19,71 | 19,49 | 0,72 | 20,35 | 21,07 | 3,89 | 24,43 | 28,32 |
| <i>S. newport</i> | -5,52 | 38,09 | 32,58 | -0,24 | 11,19 | 10,95 | 0,78 | 6,87 | 7,64 | 4,18 | 23,28 | 27,46 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,27 | 46,21 | 45,94 | -0,01 | 17,52 | 17,50 | 0,04 | 16,19 | 16,23 | 0,21 | 25,51 | 25,71 |
| <i>S. infantis</i> | -5,11 | 41,10 | 35,99 | -0,22 | 13,44 | 13,21 | 0,72 | 10,12 | 10,84 | 3,87 | 24,17 | 28,05 |
| <i>S. mbandaka</i> | -3,44 | 32,84 | 29,40 | -0,15 | 5,72 | 5,58 | 0,48 | -1,92 | -1,43 | 2,60 | 22,80 | 25,41 |

Annexe 20 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur l'acier inoxydable 304 en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| | 304 | | | | | | | | | | | |
|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| Bactérie | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| <i>S. muenster</i> | -8,57 | 13,23 | 4,66 | -1,77 | 36,64 | 34,87 | -4,82 | 53,94 | 49,12 | -7,65 | 60,62 | 52,97 |
| <i>S. newport</i> | -9,21 | -1,18 | -10,39 | -1,90 | 31,89 | 29,99 | -5,18 | 43,80 | 38,62 | -8,23 | 53,75 | 45,53 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,46 | 8,25 | 7,80 | -0,09 | 37,03 | 36,94 | -0,26 | 53,25 | 52,99 | -0,41 | 61,67 | 61,26 |
| <i>S. infantis</i> | -8,54 | 2,07 | -6,47 | -1,77 | 33,84 | 32,07 | -4,80 | 47,30 | 42,50 | -7,63 | 56,78 | 49,15 |
| <i>S. mbandaka</i> | -5,74 | -10,66 | -16,40 | -1,19 | 29,14 | 27,95 | -3,23 | 37,64 | 34,42 | -5,13 | 49,87 | 44,74 |

Annexe 21 : Calcul les énergies libres de Van der Waals (ΔG^{LW}), acide-base (ΔG^{AB}) et totale (ΔG^{Total}) de l'adhésion des bactéries des salmonelles sur l'acier inoxydable 316L en fonction des traitements par le peroxyde d'hydrogène

| | 316L | | | | | | | | | | | |
|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | Temoin | | | 0,75% | | | 1,50% | | | 3,00% | | |
| Bactérie | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} | ΔG^{LW} | ΔG^{AB} | ΔG^{Total} |
| <i>S. muenster</i> | -6,17 | 3,97 | -2,20 | -9,66 | 51,25 | 41,59 | -8,53 | 48,24 | 39,71 | -4,84 | 39,78 | 34,94 |
| <i>S. newport</i> | -6,63 | -8,84 | -15,47 | -10,38 | 41,68 | 31,29 | -9,16 | 39,23 | 30,07 | -5,20 | 32,99 | 27,79 |
| <i>S. kentucky</i> | -0,33 | -0,95 | -1,28 | -0,51 | 50,61 | 50,10 | -0,45 | 47,65 | 47,19 | -0,26 | 39,54 | 39,29 |
| <i>S. infantis</i> | -6,14 | -6,17 | -12,31 | -9,62 | 44,99 | 35,36 | -8,49 | 42,35 | 33,85 | -4,82 | 35,43 | 30,61 |
| <i>S. mbandaka</i> | -4,13 | -17,37 | -21,50 | -6,47 | 35,87 | 29,40 | -5,71 | 33,77 | 28,06 | -3,24 | 28,91 | 25,67 |