

Les biofilms microbiens dans les ateliers de transformation de la filière viande : inconvénients et intérêts potentiels

J. LABADIE.

Directeur Adjoint - S.R.V. INRA de Theix 63122 Saint Genès Champanelle - France

E-mail : labadie@clermont.inra.fr

RESUME : Les biofilms microbiens, leur origine et les problèmes qu'ils posent sont présentés dans cet article. Concernant, la filière viande, ces biofilms sont ignorés ou méconnus alors que la plupart des problèmes d'hygiène de cette filière sont la conséquence de la survie en biofilm de toutes les bactéries. Le concept de biofilm positif et protecteur est également abordé.

Microbial biofilms in meat processing plants : drawbacks and potential benefits

J. LABADIE.

Directeur Adjoint - S.R.V. INRA de Theix 63122 Saint Genès Champanelle - France

E-mail : labadie@clermont.inra.fr

SUMMARY: The microbial biofilms, their origin and the problems they are responsible are presented in this paper. Concerning the meat plants, these biofilms are ignored or unknown even if they always are at the origin of contaminations all the processing lines. The concept of positive or protecting biofilms is also presented and discussed.

INTRODUCTION

La biosphère terrestre est une entité multiple et complexe où dominant, dans toutes les niches écologiques des bactéries appartenant à de très nombreuses familles. Depuis l'origine de la microbiologie, l'isolement de nouvelles espèces bactériennes, y compris celles capables de se développer dans les conditions les plus extrêmes, a presque toujours conduit les bactériologistes, à étudier la physiologie de ces espèces à l'état libre en bouillon nutritif plus ou moins complexes. Cette manière de faire qui paraît aller de soi provient au moins en partie des origines de la microbiologie et en particulier des expériences de Pasteur qui utilisa pour démontrer l'existence du monde microbien des ballons à col de cygne contenant des bouillons se troublant plus ou moins rapidement au contact de l'air en fonction de son taux de contamination. On sait, en fait, depuis un petit nombre d'années, en gros 20 à 25 ans tout au plus, que la biomasse microbienne vit pour sa très grande majorité sous forme fixée à divers substrats, organiques ou minéraux. Ainsi, la découverte de l'existence de biofilms microbiens survivant au contact du fond des océans, des fleuves, des lacs, des tissus vivants, ou encore de l'air atmosphérique est une petite révolution dans le domaine de la microbiologie. Certes, il y a longtemps que l'adhésion est connue comme étape initiale essentielle à la colonisation de nombreux supports (Zobell, 1943), de nombreux tissus, notamment lors de processus pathologiques, (Costerton *et al.*, 1987), toutefois ce n'est qu'assez récemment que le concept de survie en biofilm a été associé à une phase naturelle de la vie microbienne (Nielsen, 1987 ; O'Toole *et al.*, 2000). C'est en particulier la découverte d'un lien physiologique spécifique, faisant appel à une cascade de réactions clairement identifiées au plan du protéome et du génome, entre colonisation d'un support et survie en biofilms, qui l'a montré de manière indubitable (Costerton, 1995). L'identification de toutes ces étapes chez tous les microorganismes qui ont été étudiés en ce sens a permis d'apporter la preuve définitive de son importance dans la vie microbienne. Du point de vue de la colonisation des ateliers de transformation des aliments, l'idée que la survie en biofilm y est importante a rapidement été admise (Le Gros *et al.*, 1986), dans la mesure où les surfaces des environnements de fabrication sont presque toujours contaminées par de nombreuses espèces bactériennes souvent pérennes et où le passage en atelier de transformations des produits à transformer entraîne inévitablement un accroissement de la contamination moyenne (par cm^2) du produit final d'un facteur 10 ou 100. Enfin, la mise en évidence d'une résistance à la désinfection nettement accrue des bactéries survivant en biofilms (Holah et Thorpe, 1990), a définitivement incité de nombreux chercheurs microbiologistes à se pencher sur l'étude spécifique des biofilms aussi bien au plan cognitif, qu'au plan appliqué.

1. IMPORTANCE DES BIOFILMS CHEZ L'HOMME ET DANS LES ÉCOSYSTÈMES NATURELS

Parmi les plus connus, les biofilms recouvrant les dents de l'homme en particulier et qui constituent la plaque dentaire sont évidemment très étudiés en raison de leur implication directe dans la formation des caries (Rose, 2000). Hormis, ces biofilms tous ceux qui se forment en milieu hospitalier, à la surface des cathéters implantés chez de nombreux malades font aussi l'objet de multiples travaux en raison de leur résistance aux traitements antibiotiques (Stamm, 1991).

Dans les milieux naturels, les biofilms se développent dans l'eau, au contact des substrats rocheux font l'objet de nombreux travaux, car ils sont essentiels aux maintiens de la qualité des écosystèmes aquatiques (Flemming, 1993).

Enfin, tous les biofilms qui sont apparus dans les milieux créés par l'homme, au contact des canalisations de distribution de l'eau potable, des canalisations d'alimentation en eaux des hôpitaux, au fond des bassins d'épuration, dans les tours de refroidissement de l'industrie pétrolière, etc... sont aussi très étudiés (Flemming, 1993 ; Massol-Deya, 1995) en raison de leur rôle néfaste ou au contraire favorable à la qualité des eaux transportées.

1. 1. DÉFINITION

Malgré une absence de consensus parmi les spécialistes, on peut considérer comme valable la définition de Characklis (1989), même si elle est un peu sommaire. En effet, d'après cet auteur, « un biofilm est une communauté microbienne adhérent à une surface, fréquemment incluse dans une matrice de polymères exocellulaires ». Malgré son caractère succinct cette définition a l'avantage de prendre en compte tous types de biofilms qu'ils soient constitués d'un tout petit nombre de cellules microbiennes, c'est à dire quelques unes, ou un très grand nombre, c'est à dire des couches, ou films microbiens visibles à l'œil nu, parfois épais de plusieurs dizaines de microns, c'est à dire comportant de 10^8 à 10^{11} cellules/ cm^2 .

L'inconvénient de cette définition est qu'elle ne traduit absolument pas la richesse morphologique que l'on peut observer au microscope photonique ou électronique. En effet, les biofilms peuvent prendre des aspects allant du simple amas microbien, circulaire ou hémisphérique, à de véritables structures en trois dimensions comportant des trous, des cavités, des galeries que certains assimilent à de véritables canaux d'irrigation ou peuvent circuler eau, minéraux, éléments nutritifs et alarmones (Costerton, 1995). De telles structures sont observables surtout au sein des biofilms se formant dans les milieux liquides, eaux des rivières, des lacs, des étangs, voire des canalisations d'alimentations en eaux ou dans toute sorte de liquides biologiques ou non (Massol-Deya *et al.*, 1995 ; Stickler *et al.*, 1993). Elles sont en général dépendantes des espèces microbiennes présentes, de l'âge du biofilm ou encore du type de liquide à leur contact.

Malgré l'apport indéniable de la microscopie à la connaissance des biofilms, (Möller *et al.*, 1995), il manque encore à l'heure actuelle à la définition de Characklis, comme nous l'avons souligné précédemment, des informations qui prendraient en compte des caractères phénotypiques incontestablement associés à la signification du biofilm en terme de stade physiologique des micro-organismes considérés. En d'autres termes, est-ce que l'adhésion à un support et la survie sous cette forme pour un micro-organisme est toujours synonyme de biofilm? Il est probable que cette relation soit largement vraie, mais il faudrait pour en être sûr, corréler à cette propriété, d'autres caractères indéniablement associés à un phénotype clair et facile à mettre en œuvre. La présence d'exopolymères autour des cellules microbiennes fixées est pour certains auteurs un critère important, (O'Toole and Kolter, 1998) mais des cellules microbiennes en suspension, donc non adhérentes, synthétisent aussi des exopolymères (Stanley, 1983). En fait, il est probable que des critères de résistances au stress, ou à la désinfection, devraient être pris en compte, notamment ceux qui sont associés à l'apparition de résistances identifiées aux plans génétiques et/ou protéomiques. Nous avons ainsi montré dans notre laboratoire une corrélation étroite entre résistance accrue à l'eau oxygénée et formation de biofilm chez *Listeria monocytogenes*. En fait, les carences qui viennent d'être soulignées témoignent d'un manque de travaux sur la phénotypie des bactéries survivant en biofilms. Les prochaines années viendront sans doute combler ce manque, dans la mesure où de nombreux laboratoires s'investissent dans l'étude de la physiologie de la croissance en biofilms.

1.2. FORMATION

1.2. 1 Adhésion

La formation des biofilms est une étape clé de la colonisation des supports par les micro-organismes. Elle a été beaucoup étudiée et ses étapes ont été bien caractérisées au plan physico-chimiques, notamment en ce qui concerne les forces impliquées dans l'adhésion (Pratt et Kolter, 1998).

Classiquement, on distingue deux grandes phases dans la formation des biofilms (Briandet *et al.*, 2001 ; Bellon-Fontaine *et al.*, 1990) une phase d'adhésion et une phase de colonisation. La première fait appel à des interactions physico-chimiques, qui évoluent au fur et à mesure que les cellules microbiennes se rapprochent du support qu'elles vont coloniser. Ainsi, forces de Van der Waals attractives, puis forces d'interactions

électrostatiques répulsives, mais aussi, interactions acido-basiques, sont mises en jeu jusqu'à la phase d'adhésion proprement dite. La somme de ces forces constitue l'énergie de Gibbs ou force d'interaction totale (Gtot). Les forces électrostatiques et de Van der Waals sont influencées par la taille des cellules, l'hydrophobicité, la composition de la surface et son environnement ionique. Ainsi, la présence de nutriments ou d'autres molécules organiques à la surface peuvent influencer favorablement ou défavorablement l'adhésion. Indépendamment des forces d'interactions physico-chimiques, des facteurs qui dépendent des cellules microbiennes elles mêmes sont également très importants, voire déterminants. Ainsi, les pili et surtout les flagelles (O'Toole et Kolter, 1998 2) (dont la taille peut être 4 ou 5 fois plus grande que la bactérie elle même) en entrant en contact avec une surface semblent être pour les bactéries, de véritables senseurs permettant de donner à la cellule l'information nécessaire à la mise en route d'une cascade de réaction physiologique conduisant à la formation du biofilm. Toutes les cellules bactériennes n'étant pas flagellées, il a été montré que d'autres senseurs de nature protéique (pili, autolysines, systèmes à deux composants, autres) qui seront évoqués ultérieurement, sont également mis en jeu (Oligino et Fives-Taylor, 1993 ; Heilman et Götz, 1997). Très souvent, les bactéries devenues adhérentes synthétisent des exopolymères de nature variée, qui renforcent l'attachement au support et qui rendent très difficiles le détachement des cellules microbiennes (Makin et Beveridge, 1996). A ce stade, les biofilms peuvent se développer pour coloniser leur support.

1. 2. 2. Colonisation

Cette phase commence bien entendu par des multiplications cellulaires dans la matrice exocellulaire ou au contact du support. Souvent, mais ce n'est pas obligatoire, avant l'adhésion des micro-organismes, un film de matières organiques ou film dit « conditionnant » est un préalable à la colonisation des supports par les bactéries (Mettler et Carpentier, 1998). Il semble que l'environnement proche de la surface à coloniser, pH, nature ionique ou hydrophobe du support, géométrie, joue un rôle clé sur la vitesse de colonisation (Fletcher and Pringle, 1986 ; Kolenbrander et London, 1996). Par la suite, ce sont les nutriments présents qui vont favoriser ou non la division cellulaire. On voit alors se former avec le temps de véritables micro colonies pures ou mixtes qui peuvent fusionner pour former un biofilm continu occupant des surfaces variant de quelques mm² jusqu'à des dizaines de cm² (Carpentier, 1999), voire plusieurs centaines de m² dans certaines niches écologiques (sources d'eaux chaudes, coques de bateaux, tours de refroidissement de l'industrie pétrolière, canalisations d'alimentation en eau potable).

Après des périodes plus ou moins longues et dans les cas les plus favorables, les structures en 3 dimensions évoquées précédemment (Costerton, 1995) peuvent se former. Des véritables consortia de flores microbiennes, capables de dégrader en cascades des substrats plus ou moins complexes, constituent parfois (eaux de surfaces, bassins d'épuration) ces biofilms. Des interactions spécifiques existent aussi entre bactéries d'espèces différentes faisant appel à des lectines, des pili, des polysaccharides, des protéines (Pratt et Kolter, 1998 ; Reddy *et al.*, 1994). Les empilements de flores qui se forment peuvent constituer des biofilms extrêmement solides, comme c'est le cas par exemple pour celui qui forme la plaque dentaire (Reddy *et al.*, 1994). Les flores en présence peuvent appartenir à des phylla très éloignés, germes aérobies strictes vivant en surface du biofilm et bactéries anaérobies strictes vivant au contact du support. Bactéries et levures, algues et bactéries, etc. sont également fréquemment mises en évidence. En fait, il existe une véritable coopération physiologique au sein des populations d'un biofilm naturel. On sait par exemple depuis longtemps que la dépollution des eaux de surfaces, si la charge en matière organique n'est pas trop importante, peut très bien être assurée par les biofilms complexes existant sur les rochers ou sur les fonds des rivières, des fleuves et des lacs (Flemming, 1993).

2. PHYSIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT EN BIOFILMS

Les publications relatives à ce domaine augmentent considérablement depuis quelques années. Toutes s'accordent pour montrer que le passage à l'état de biofilm est un processus coordonné qui fait appel à un nombre de gènes importants et à des régulations souvent mal ou très mal connues dont beaucoup sont spécifiques (Davey et O'Toole, 2000). Parmi les étapes qui sont incontestablement impliquées dans la formation des biofilms y compris au plan des régulations génétiques, l'attachement initial, la formation d'une micro colonie, la maturation de ces colonies au sein d'une capsule de polysaccharides extracellulaires (EPS) semblent toutes correspondre à des événements parfaitement enchaînés qui jouent un rôle fondamental dans la physiologie du biofilm, (O'Toole et Kolter, 1998). Les paramètres environnementaux qui contrôlent ces événements sont variables selon les bactéries en cause, mais il apparaît que des alarmones, les homosérine-lactones acylées, médiateurs chimiques secrétés par les bactéries et informant la population bactérienne de la densité cellulaire atteinte, sont directement impliqués dans le déclenchement des cascades de régulation conduisant aux biofilms (Borchardt *et al.*, 2001). Beaucoup des gènes impliqués dans la synthèse des pili, des flagelles, du métabolisme carboné, des sucres, des lipopolysaccharides (LPS), des capsules jouent un rôle incontestable mais dont l'importance varie selon les espèces étudiées et les surfaces considérées (Loo *et al.*, 2000). Il est intéressant de constater que selon que la bactérie doit coloniser une surface abiotique (plastique, verre, métal) ou nutritive (tissus vivants, polymères naturels), les gènes mis en jeu ne sont pas les mêmes (Fenno *et al.*, 1995 ; Sato *et al.*, 1997). Ce constat indique à lui seul à quel point les mécanismes de perception de la nature d'une surface à coloniser, sont précis chez les bactéries. Une fois installé, le biofilm est souvent encapsulé dans sa matrice d'EPS qui fait largement barrière à l'impact des agressions provenant de l'environnement (Nickel *et al.*, 1985 ; Shapiro, 1988). En effet, de nombreuses études ont prouvé qu'ils protégeaient les cellules bactériennes des stress environnementaux, radiations ultraviolettes, pH extrêmes, chocs osmotiques, dessiccation, détergents, désinfection (Ophir et Gutnik, 1994 ; Gilbert et Foley, 1997). Il semble également qu'il existe un certain recouvrement entre les régulations qui s'installent lors de l'entrée en phase stationnaire pour des bactéries planctoniques et lors du passage état planctonique-biofilm. En effet, le régulateur central (activateur transcriptionnel) de cette transition (le gène *rpoS*) est le même (au moins chez les bactéries à Gram négatif) dans les deux cas (Adams et Mac Lean, 1999 ; Cochran *et al.*, 2000). On a montré en particulier que l'interruption du gène codant pour ce régulateur supprimait la survie en biofilms chez la bactérie *Escherichia coli* (Adams et Mac Lean, 1999). Le recouvrement entre la phénotypie « phase stationnaire » et « biofilm » implique aussi sans doute de nombreux gènes impliqués dans la résistance au stress et à la survie. En effet, la plupart des stress auxquels sont devenus résistantes les bactéries en phase stationnaire sont aussi sans effet sur les cellules qui forment un biofilm. D'une manière générale, il semble qu'au moins 20% du génome bactérien est impliqué durablement par la transition phase planctonique biofilm et par la multiplication sous cette forme (Prigent-Combaret et Lejeune, 1999).

D'un point de vue agroalimentaire, c'est la formidable augmentation de résistance à la désinfection des bactéries biofilmées qui a frappé les hygiénistes. En effet, la résistance à de nombreux agents augmente d'un facteur 100 ou 1000, voire plus, selon les molécules testées (Gilbert et Foley, 1997). Il y a là en particulier matière à développer de nombreux travaux de recherches, car l'origine de cette augmentation est loin d'être comprise actuellement.

3. BIOFILMS ET TRANSFORMATIONS DES PRODUITS ALIMENTAIRES

Bien qu'ils soient étudiés abondamment les biofilms des ateliers de transformations des aliments sont encore relativement mal connus. Des travaux nombreux et récents attestent de l'im-

portance que leur accordent les microbiologistes. Parmi les filières, touchées de longue date par les problèmes de biofilms, la minoterie et la malterie sont les plus connues avec des biofilms permanents et récurrents impliquant diverses bactéries lactiques dont le redoutable *Leuconostoc dextranicum* (Carpentier, 1999). Parmi les autres filières qui ont très rapidement pris conscience de l'importance des biofilms, la filière eau est la plus remarquable, en raison de l'impact direct des biofilms survivant au contacts des canalisations, sur la salubrité de l'eau de boisson mais aussi sur le goût de l'eau qui est rapidement affectée par la présence, même en très faible quantité, de biofilms sur les surfaces des tuyauteries de distribution (Fletcher, 1996). La filière lait est aussi sensible aux problèmes des biofilms, en raison d'une part de l'influence directe des biofilms survivant au contact des coudes des tuyauteries des installations de traite ou encore dans les lactoducs, sur la charge microbienne du lait de boisson et du lait servant à la fabrication des fromages et d'autre part du rôle ambivalent [favorables (fiores d'affinages) et/ou défavorables (germes d'altération) à la qualité] des biofilms survivants dans les fromageries ou dans les ateliers d'affinage (Briandet *et al.*, 1998).

3. 1. BIOFILMS ET FILIÈRE VIANDE

Très peu d'études ont été consacrées de manière spécifique aux biofilms qui se développent dans les ateliers de transformations y compris les ateliers de salaisons. Pourtant, il est connu de longue date que toutes les surfaces des environnements de fabrication depuis l'abattoir jusqu'au poste d'emballage des portions consommateurs de l'atelier de découpe sont colonisées par des micro-organismes et notamment par des bactéries spécifiques aux filières viandes. En fait, les microbiologistes de la viande sont un peu comme Mr Jourdain qui faisait de la prose sans le savoir, ils ont presque toujours été confrontés dans les produits carnés à des flores d'altération provenant de biofilms en l'ignorant complètement. Il est tout à fait intéressant de constater que les travaux qui ont tenté de chercher sur les murs des ateliers de découpe, sur le sol de ces mêmes ateliers, sur les tapis convoyeurs, sur les bacs d'entreposages, etc... ont tous montré la présence de ces flores spécifiques à la filière viande, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas lundensis*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc gelidum*, *L. carnosum*. Tout ce qui a été dit à propos de la colonisation des surfaces en général est parfaitement valable pour ces flores. Il en est de même aussi largement pour les interactions complexes entre ces flores et celles qui survivent sans doute sur ces installations, mais qui sont incapables de croître sur la viande et dont on ignore l'existence. Malheureusement, on ne sait que peu chose des paramètres qui modifient dans le temps la présence de ces bactéries, les équilibres existant entre elles, ou encore l'origine de leur disparition éventuelle. On connaît mal également les interactions qui existent entre toutes ces flores et les espèces bactériennes pathogènes qui sont désormais présentes dans tous les ateliers de la filière viande, depuis l'abattoir jusqu'aux ateliers de découpe. Pourtant, certains travaux ont mis clairement en évidence le rôle que pourraient jouer les biofilms de *Pseudomonas fragi* sur la présence de *Listeria monocytogenes*. Ainsi, d'après Zottola (1997), un premier biofilm formé par *Pseudomonas fragi* favorise considérablement la formation d'un biofilm par *Listeria monocytogenes*. Hormis ces travaux il semble que la plupart des bactéries d'altérations évoquées plus haut forment des biofilms pérennes. Ainsi, Talon *et al.* (1984) ont montré dans un travail déjà ancien que les viandes de porcs étaient dépourvues de *B. thermosphacta* avant l'entrée en ateliers de découpe et en chambre froide. Dès les premières opérations de découpe les *Brochothrix* apparaissent sur les produits indiquant sans doute l'existence de biofilms de ces bactéries dans ces environnements et notamment toutes les surfaces réfrigérées.

Il est sûr que tout ce qui vient d'être dit précédemment sur les biofilms en général est valable pour toutes les flores spécifiques à la filière viande, mais on a encore rarement envisagé les problèmes de contaminations de viandes sous l'angle de biofilms qui alimenteraient la contamination. En fait, il appa-

raît que seule la résistance aux désinfectants qui est très grande puisse être un élément qui fasse apparaître la spécificité de la physiologie des bactéries se développant en biofilms. Toutefois, les hygiénistes de la filière savent depuis longtemps que les aérosols sont à l'origine de dépôts microbiens importants sur les surfaces, (Fournaud *et al.*, 1978). Il savent aussi que l'essentiel des contaminations s'opère par contact entre ce qui est contaminé et ce qui ne l'est pas encore (Cartier, 1993). Ils savent aussi que l'eau est une source de contaminations importantes, (Fournaud *et al.*, 1978) et que tout contact des carcasses ou des viandes avec les murs et le sol des environnements de fabrication est catastrophique au plan de la charge microbienne apportée aux produits. Par contre, ils savent *mal ou pas du tout* qu'à l'origine des contaminations, des biofilms sont la cause de leurs problèmes.

En fait, il faut distinguer deux cas de figures qui différencient les deux catégories de produits carnés offerts à la consommation, les produits frais et les produits fermentés.

Cas des produits frais :

il est clair que fraîcheur et développement microbien sont incompatibles, il faut donc détruire toute bactérie pour garantir la préservation du caractère frais des produits.

Cas de produits fermentés :

la situation est moins simple. En effet, même si l'ajout de ferments garantit souvent une bonne acidification des produits tels que les saucissons, la présence de flores pathogènes dans les mêlées peut provenir des environnements de fabrication. La tendance à livrer sur le marché des produits peu maturés et peu secs, ou l'élimination des pathogènes est éventuellement incomplète, peut créer à terme des accidents sanitaires. Ce problème est encore plus crucial dans les produits issus de la production fermière qui sont non ensemencés et dont l'acidification naturelle est souvent faible. Dans ces produits, comme d'ailleurs dans les environnements de fabrication des jambons secs, les biofilms microbiens jouent un rôle méconnu, mais bien réel. Les flores complexes présentes dans les ateliers influencent les équilibres microbiens de ces environnements en favorisant ou en éliminant des flores compétitrices pour les supports à coloniser. *Rien n'est connu de ces équilibres microbiens.*

D'une importance déterminante pour la qualité des produits fermiers, ces biofilms méritent d'être étudiés car dans certains cas bien utilisés ou « dirigés », ils pourraient inhiber la colonisation des surfaces par les bactéries pathogènes apportées au cours du temps par les différentes fabrications. Ces biofilms positifs ou protecteurs jouent un rôle qui mérite d'être étudié spécifiquement et de manière approfondie.

3. 2. LES BIOFILMS POSITIFS

En fait, seules des observations concordantes mais qui n'ont jamais été ou presque l'objet d'études spécifiques, montrent que dans certains ateliers il est rare voire exceptionnel d'isoler des bactéries pathogènes. Il est intéressant de constater que ces ateliers sont colonisés par des flores microbiennes depuis de nombreuses années et que même si une contamination extérieure a lieu, elle ne peut s'implanter. Très peu d'expérimentations sur les compétitions de flores en biofilms existent. Dans le domaine agroalimentaire, il a été montré que des certaines souches de *Staphylococcus sciuri* inhibaient le développement, sur les surfaces, de *Listeria monocytogenes* par un mécanisme encore mal compris (Leriche et Carpentier, 1999). Il semble également que certaines espèces bactériennes produisent encore en biofilms des bactériocines capables d'inhiber ou d'éliminer des espèces taxonomiquement proches ou des pathogènes dont *Listeria monocytogenes* (Leriche *et al.*, 1999). Il existe aussi des bactéries appartenant à des espèces variées qui produisent en biofilms des surfactants capables d'éloigner des surfaces déjà colonisées des espèces concurrentes et taxonomiquement proches (Christensen *et al.*, 1998). On a même montré, in vitro, que certaines bactéries à Gram négatif étaient capables d'émettre des vésicules membranaires, contenant des autolysines ou des protéases, et qui en fusionnant avec la membrane d'autres bactéries à Gram (-), sont

capables de détruire ces bactéries, (Li *et al.*, 1998). Malgré ces résultats de travaux intéressants menés avec des cellules planctoniques, aucune étude spécifique n'est venue étayer ces hypothèses, en biofilms et a fortiori à une grande échelle. Le constat de telles carences est moins important en ce qui concerne le domaine de la survie en milieu carencé, et à long terme, des bactéries (situation de flores implantées depuis plusieurs années dans les ateliers agroalimentaires) en phase planctonique. Ainsi, des expériences uniquement menées pour l'instant sur *Escherichia coli*, ont montré que des cellules vieilles de 10, 20 ou 30 jours éliminaient respectivement des cellules de 1, 10 ou 20 jours appartenant à la même espèce (Finkel et Kolter, 1999). Dans tous les cas de figures étudiés, les cellules âgées éliminent presque totalement les plus jeunes. Aucune explication claire n'est avancée pour expliquer ces phénomènes. Les hypothèses avancées font état d'une accumulation de mutations qui, au cours du temps, donneraient un avantage aux bactéries les plus vieilles. Il semble aussi que des remaniements génétiques allant jusqu'à des modifications du profil en champ pulsé de l'ADN, aient lieu. Ces remaniements refléteraient des rapprochements après excision recombinaison dans une même région du chromosome, de gènes impliqués dans la physiologie de la survie. L'économie énergétique qui en résulterait donnerait un avantage aux cellules qui les auraient accumulés. Si ces hypothèses se vérifient aussi entre espèces bactériennes proches, voire même éloignées au plan taxonomique mais utilisant les mêmes substrats pour leur survie, on peut imaginer aisément pourquoi des souches implantées depuis longtemps dans un atelier dominant et éliminent leurs concurrentes. Il reste tout de même à démontrer que ces phénomènes existent effectivement en ateliers et surtout au sein des biofilms complexes qui s'y établissent. En tous cas, de tels mécanismes d'adaptation expliqueraient bien pourquoi certains ateliers, « sales » du point de vue microbiologique (au plan quantitatif) sont réfractaires à la colonisation par certaines bactéries pathogènes. Il faut ajouter enfin qu'il y a là un champ de recherches extrêmement intéressant et prometteur pour les écologistes microbiens.

Bellon-Fontaine. M. N., Mozes. N., Van der Mei. H. C., Sjollema. J., Cerf O., Rouxhet. P. G., Busscher. H. J. 1990. *Cell Biophys* 17: 93-106

Bizzaro. S., Deneuve. L., Venbeuvre. J. L., 1990. Viandes et Produits Carnés. 11 : 220-222.

Borchardt, S., A., E. J. Allain, J. J. Michels, G. W. Stearns, R. F. Kelly, and W. F. McCoy. 2001. *Appl. Environ. Microbiol.* 67 : 3174-3179

Briandet. R., Herry. J., M. N. Bellon-Fontaine. 2001. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2001 21:299-310

Carpentier. B. 1999. *Bull. Soc. Fr. Microbiol.* 14 : 105-111.

Characklis. W. G. 1989. In : « Biofilms ». Characklis W. G., Marshall. K. C., Eds) John Wiley and Sons, New York. : 3-15.

Christensen, B. B., C. Sternberg, J. B. Andersen, L. Eberl, S. Moller, M. Givskov, and S. Molin. 1998. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2247-2255.

Cochran, W. L., S. J. Suh, G. A. McFeters, and P. S. Stewart. 2000. *J. Appl. Microbiol.* 88:546-553.

Costerton, J. W. 1995. Overview of microbial biofilms. *J. Ind. Microbiol.* 15:137-140.

Costerton, J. W., K.-J. Cheng, G. G. Geesey, T. I. Ladd, J. G. Nickel, M. Dasgupta, and T. J. Marrie. 1987. *Annu. Rev. Microbiol.* 41:435-464.

Fenno, J. C., A. Shaikh, G. Spatafora, and P. Fives-Taylor. 1995. 323-327.

Finkel, S. E and R. Kolter. 1999. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96 : 4023-4027.

Flemming, H.-C. 1993. *Water Sci. Technol.* 27: 1-10.

Fletcher, M. 1996. p. 1-24. In M. Fletcher (ed.), *Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity.* John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y.

Fournaud, J., G. Graffino, R. Rosset, R. Jacque. 1978. *Ind. Alim. Agric.* 273-282.

Gilbert, P., J. Das, and I. Foley. 1997. *Adv. Dent. Res.* 11:160-167.

Heilmann, C., M. Hussain, G. Peters, and F. Gotz. 1997. *Mol. Microbiol.* 24:1013-1024.

Holah. J. T and R. H. Thorpe. 1990. 69 : 599-608.

Kolenbrander, P. E., and J. London. 1993. *J. Bacteriol.* 175:3247-3252.

Le Gros. L., C. Labelle et G. Bennejean. 1986. 7 : 139-140.

Leriche, V., D. Chassaing, B. Carpentier. 1999. *Int. J. Food. Microbiol.* 51 : 169-182.

Leriche, V., B. Carpentier. 2000. *J Appl Microbiol.* 2000 Apr;88(4):594-605.

Li, Z., A. J. Clarke and T. J. Beveridge. 1998. *J. Bacteriol.* 180 : 5478-5483.

Loo, C. Y., D. A. Corliss, and N. Ganeshkumar. 2000. *J. Bacteriol.* 182:1374-1382.

Makin, S. A., and T. J. Beveridge. 1996. *Microbiology* 142:299-307.

human enamel and root surfaces in vivo. *Scand. J. Dent. Res.* 95:369-380.

Massol-Deya, A. A., J. Whallon, R. F. Hickey, and J. M. Tiedje. 1995. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:769-777.

Mettler. E and B. Carpentier. 1998. *J. Food. Prot.* 61 : 57-65.

Møller, S., C. S. Kristensen, L. K. Poulsen, J. M. Carstensen, and S. Molin. 1995. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:741-748.

Nickel, J. C., I. Ruseska, J. B. Wright, and J. W. Costerton. 1985. *Antimicrob. Agents Chemother.* 27:619-624.

Nielsen, P. H. 1987. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:27-32.

Massol-Deya, A. A., J. Whallon, R. F. Hickey, and J. M. Tiedje. 1995. 61:769-777.

Oligino, L., and P. Fives-Taylor. 1993. *Infect. Immun.* 61:1016-1022.

Ophir, T., and D. L. Gutnick. 1994. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:740-745.

O'Toole, G. A., H. Kaplan, and R. Kolter. 2000. *Annu. Rev. Microbiol.* 54:49-79.

O'Toole, G. A., and R. Kolter. 1998. *Mol. Microbiol.* 28:449-461.

Pratt, L. A., and R. Kolter. 1998. *Mol. Microbiol.* 30:285-294.

Reddy, G. P., C. Abeygunawardana, C. A. Bush, and J. O. Cisar. 1994. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:740-745.

Rose, R. K. 2000. *Biochim. Biophys. Acta* 1475:76-82.

Sato, Y., Y. Yamamoto, and H. Kizaki. 1997. *Infect. Immun.* 65:668-675.

Shapiro, J. A. 1998. *Annu. Rev. Microbiol.* 52:81-104.

Stamm, W. 1991. *Am. J. Med.* 91(3B):65S-71S.

Stanley, P. M. 1983. *Can. J. Microbiol.* 29:1493-1499.

Stickler, D. J., J. B. King, C. Winters, and S. L. Morris. 1993. *J. Infect.* 27:133-135.

Talon (1984). Colloque SFM. Micro-organismmes et aliments. Abstracts : P4, 8-9 Novembre.

Zobell, C. E. 1943. The effects of solid surfaces upon bacterial activity. *J. Bacteriol.* 46:39-56.

