

**SCIENCES & TECHNIQUES**  
**AGROALIMENTAIRES**

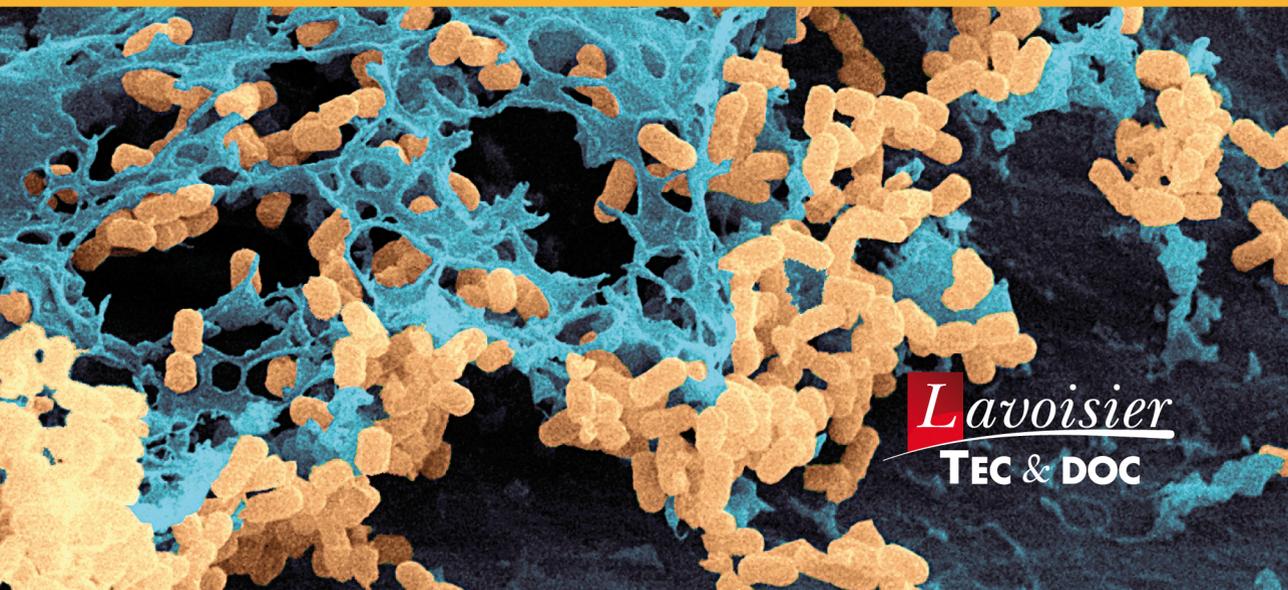


# Conception hygiénique de matériel et nettoyage-désinfection

pour une meilleure sécurité  
en industrie agroalimentaire

MARIE-NOËLLE BELLON-FONTAINE, THIERRY BÉNÉZECH  
KARINE BOUTROUX, CHRISTOPHE HERMON

Coordonnateurs



*Lavoisier*  
**TEC & DOC**





# Les matériaux dans l'adhésion microbienne et la formation de biofilms

CHRISTINE FAILLE, BASTIEN FRÉMAUX, CHRISTOPHE HERMON,  
NADIA OULAHAL, MARIE-NOËLLE BELLON-FONTAINE

On sait aujourd'hui que toute surface en contact avec un fluide peut, plus ou moins rapidement, être contaminée par des substances organiques, inorganiques ou encore par des particules biologiques incluant notamment les microorganismes. Les matériaux couramment utilisés dans nombre de secteurs d'activités et dans notre environnement quotidien, n'échappent pas à cette règle. Plastiques, métaux, verres, céramiques, bétons... peuvent ainsi être contaminés par des bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, par des levures, par des moisissures ou encore par des virus.

Recherchée lorsqu'elle est composée de germes d'intérêt (flore technologique ou positive), cette contamination microbienne ou biocontamination est combattue lorsqu'elle implique des microorganismes pathogènes ou d'altération (on parle alors de flore indésirable ou négative), compte tenu des problèmes économiques, écologiques et de santé publique qu'elle peut générer (Bellon-Fontaine *et al.*, 2008).

Dans les industries agroalimentaires, la biocontamination de la surface des équipements ou des matériaux de conditionnement par une flore négative peut en effet être à l'origine d'une dégradation prématurée du produit fini ou conduire à un risque sanitaire plus ou moins sévère (toxi-infections alimentaires (TIA) en particulier).

Maîtriser la biocontamination surfacique et les risques susceptibles d'y être associés demeure donc un challenge indéniable pour l'ensemble des acteurs des filières agroalimentaires. Cette maîtrise passe en particulier par la compréhension des mécanismes impliqués dans la mise en place du processus bioadhésif et par l'évaluation des conséquences de cet état « fixé » sur la physiologie microbienne (croissance, production de métabolites secondaires, réactivité vis-à-vis d'agents antimicrobiens...).

# 1. De l'adhésion microbienne à la formation de biofilms ou comment s'organise la vie microbienne sur les surfaces

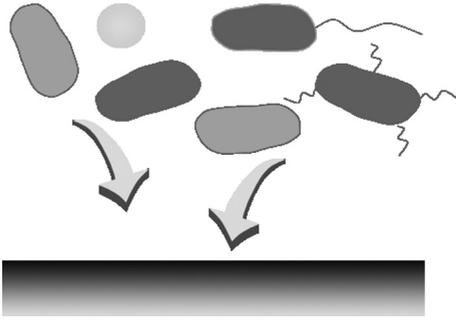
Malgré des architectures et des organisations variées, on sait aujourd'hui que la biocontamination d'un matériau répond à un unique processus séquentiel caractérisé par le transport des microorganismes vers la surface réceptrice, l'adhésion initiale des cellules microbiennes au matériau, la consolidation de cette adhésion et la colonisation du support par multiplication des cellules adhérentes, co-agrégation cellulaire et, dans certains cas, formation d'une couche muqueuse. C'est cet ensemble, formé d'une communauté microbienne adhérente et organisé en une structure tridimensionnelle, plus ou moins dense et cohésive, que l'on désigne généralement sous le nom de « biofilm » (Bellon-Fontaine *et al.*, 2008).

## 1.1. Le transport des microorganismes vers les surfaces

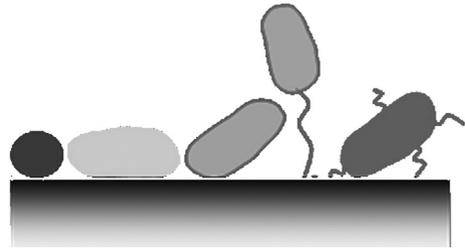
Pour que l'adhésion puisse se produire, les microorganismes doivent arriver à proximité de la surface réceptrice. Le transport des cellules microbiennes à proximité d'une surface réceptrice (figure 3.1) peut être le résultat de phénomènes de convection, diffusion et sédimentation. La nature du flux (stagnant, laminaire ou turbulent) et les paramètres hydrodynamiques tels que la vitesse d'écoulement et les forces de cisaillement jouent ainsi un rôle clé sur la cinétique de biocontamination d'un matériau (Busscher et van der Mei, 2006). La convection joue par exemple un rôle majeur en écoulement turbulent (Austin et Bergeron, 1995 ; Busscher et van der Mei, 2006). En revanche, dans des environnements « stagnants », la convection joue un rôle mineur au regard de la sédimentation et de la diffusion. Dans de tels environnements, certains microorganismes pourront par ailleurs être avantagés. Il s'agit des microorganismes disposant d'appendices cellulaires (Van Houdt et Michiels, 2010) tels que les flagelles, qu'ils soient polaires ou péritriches, leur permettant de se déplacer par un mouvement autonome et orienté (chimiotactisme). Ces germes capables d'approcher rapidement du support récepteur pourront ainsi être « les pionniers de la contamination » (Bouttier, 1999 ; Brown *et al.*, 2014 ; Bruzaud, 2014). Ce phénomène a notamment été observé pour des souches de *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ou encore *Bacillus cereus*.

## 1.2. L'adhésion

Une fois les microorganismes proches d'une surface réceptrice (les auteurs s'accordent à donner une distance de l'ordre de 50 nm pour que des interactions se produisent), les microorganismes peuvent alors interagir avec la surface par l'intermédiaire d'interactions physico-chimiques pour former une liaison adhésive : on parle alors d'adhésion microbienne (figure 3.2). Ces interactions non covalentes comprennent notamment (van Oss, 1996) les interactions électrostatiques (EL), les interactions électrodynamiques ou de Lifshitz-van



**Figure 3.1.** Transport des microorganismes vers les surfaces.



**Figure 3.2.** Adhésion des microorganismes aux surfaces.

der Waals (LW) et les interactions de type donneur/accepteur d'électrons, ou acide-base de Lewis (AB).

Jusque dans les années 1990, ces phénomènes d'adhésion microbienne étaient modélisés à l'aide des deux théories physico-chimiques (Bellon-Fontaine et Cerf, 1991) :

- la théorie de la stabilité de l'état colloïdal ou DLVO (d'après le nom des auteurs Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek), qui décrit l'adhésion comme un équilibre entre interactions électrostatiques et interactions de type London-van der Waals ;
- la théorie du mouillage donnée par la thermodynamique des surfaces, qui prend directement en compte l'ensemble des interactions intermoléculaires, à l'exception des interactions électrostatiques.

Les différentes études réalisées, impliquant l'une ou l'autre de ces théories, ont permis de mettre en évidence leur complémentarité ainsi que leurs limites. En effet, dans certains cas, ces approches se sont montrées insuffisantes pour expliquer les phénomènes observés (Rouxhet, 1990).

L'approche développée par van Oss, Chaudhury et Good dans les années 1980 (van Oss *et al.*, 1988) a permis quant à elle de progresser dans la compréhension des phénomènes interfaciaux en intégrant les interactions entre accepteur et donneur d'électrons, c'est-à-dire acide-base de Lewis, interactions dont les énergies peuvent être deux fois plus importantes que celles dues aux interactions LW ou EL communément décrites dans la théorie DLVO (van Oss, 1996). La modélisation des interactions interfaciales entre deux corps immergés en milieu aqueux combine, selon cette approche, l'ensemble des forces primaires précédemment décrites (LW, AB, EL).

Les énergies inhérentes à ces différentes interactions étant inversement proportionnelles à la distance de séparation entre le microorganisme et le support récepteur (M/S) (van Oss *et al.*, 1988), l'énergie de liaison ou d'adhésion sera d'autant plus importante que le microorganisme et le support seront proches. En conséquence, augmenter la distance de séparation M/S peut être une stratégie de prévention de la biocontamination surfacique.

Ces interactions sont donc étroitement liées aux propriétés physico-chimiques de la surface de chacun des corps en présence. Ainsi, et pour une flore donnée, l'adhésion dépendra de la nature du matériau et de ses caractéristiques de surface comme son caractère hydrophobe ou hydrophile, ses propriétés électriques, van der Waals et Lewis acide-base. Toute modification de l'une ou l'autre de ces propriétés aura des conséquences certaines sur la biocontamination microbienne.

### 1.3. La consolidation de cette adhésion et la colonisation du support

Si les premières étapes d'adhésion dépendent de facteurs physiques et physico-chimiques, les étapes suivantes relèvent quant à elles de la microbiologie. Certains microorganismes vont par exemple réagir à cette mise en contact avec une surface (Guegan *et al.*, 2014 ; Bruzaud, 2014), en produisant des substances exocellulaires qui vont consolider leur ancrage sur le support et/ou leur permettre de s'adapter à cette nouvelle vie « fixée ». D'autres, à l'inverse, produiront des substances tensio-actives, pour se détacher et se libérer. Cette étape dépend donc de cette « perception » de l'état fixé mais aussi de la physiologie des microorganismes (Briandet et Bellon-Fontaine, 2000). Enfin, si les conditions de vie et de croissance sont favorables ( $a_w$ ,  $T^\circ$ , pH ou autres), les germes adhérant pourront se multiplier, proliférer, co-interagir *via* les mêmes interactions que celles précédemment décrites pour former un biofilm. L'utilisation de techniques d'analyses microscopiques (microscopie confocale laser à balayage et microscopie de corrélation biphotonique en particulier) ont permis de mettre en évidence une grande dynamique de vie au sein de ces structures tridimensionnelles pouvant conduire à des phénomènes de stratification cellulaire, de migration, d'échanges génétiques, d'érosion... (Briandet et Bellon-Fontaine, 2000).

## 2. Influence des propriétés des surfaces en présence et du milieu environnant

Bien que de la contamination microbienne soit retrouvée sur tous types de matériaux, leurs propriétés de surface (composition chimique, propriétés physico-chimiques, topographie) jouent un rôle prépondérant sur les interactions avec les bactéries.

### 2.1. Les propriétés intrinsèques des matériaux

De nombreux travaux rapportés dans la littérature indiquent clairement que la nature du matériau affecte les cinétiques de contamination (Silva *et al.*, 2008), la distribution des cellules adhérentes (Senechal *et al.*, 2004) et la formation des biofilms (Somers et Wong, 2004). Pourtant, encore aujourd'hui, personne ne peut affirmer que tel matériau serait plus hygiénique que tel autre, car la facilité à l'encrassement semble très affectée par les conditions environnementales, mais aussi par le microorganisme. Par exemple, Marouani-Gadri et ses collaborateurs (Marouani-Gadri *et al.*, 2009) ont montré que, dans la plupart des conditions testées dans leur étude, l'acier inoxydable (généralement reconnu comme très hygiénique) et un polyuréthane utilisé pour les tapis convoyeurs avaient un comportement similaire en termes de contamination par des biofilms de *E. coli* O157:H7.

Les différences observées entre matériaux peuvent être induites par la nature chimique du matériau, mais surtout par leurs propriétés physico-chimiques ou leur topographie.

### 2.1.1. La physico-chimie des matériaux

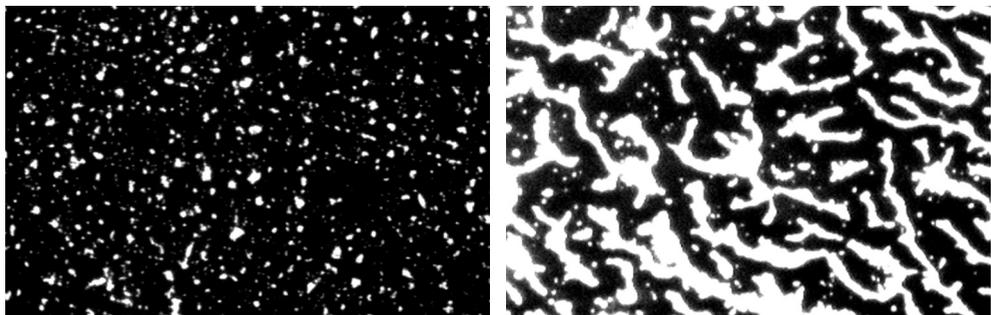
À titre d'exemple, les polymères synthétiques qui sont couramment dénommés « plastiques » peuvent présenter, malgré un aspect physique similaire, des structures chimiques et, en conséquence des propriétés physico-chimiques de surface, très différentes (tableau 3.I), se traduisant également par des différences dans leur aptitude à la biocontamination. Toute modification de la surface de ces matériaux se traduira par des différences dans leur degré de biocontamination (Bruzaud, 2014).

**Tableau 3.I.** Aspect extérieur et composantes van der Waals ( $\gamma^{LW}$ ), accepteur ( $\gamma^+$ ) et donneur ( $\gamma^-$ ) d'électrons de la tension de surface de différents polymères synthétiques.

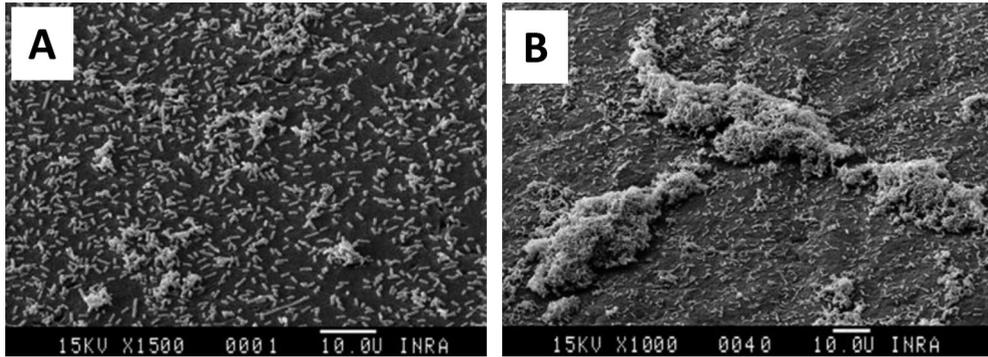
Polymère	Aspect	$\gamma^{LW}$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\gamma^+$ (mJ/m <sup>2</sup> )	$\gamma^-$ (mJ/m <sup>2</sup> )
PTFE <sup>1</sup>	Blanc, semi-opaque	16	0	0
Polypropylène	Blanc, semi-opaque	26	0	0
Polyéthylène	Blanc, semi-opaque	33	0	0
PMMA <sup>2</sup>	Transparent	40	0	15
Polystyrène	Transparent	42	0	1

1. Polytétrafluoroéthylène. 2. Polyméthyl-métacrylate.

Au-delà de cet impact sur le nombre de cellules adhérentes, les caractéristiques de surface du matériau peuvent également intervenir sur la répartition des germes adhérents (figure 3.3). Des différences de distribution spatiale peuvent être observées non seulement pour un matériau donné en fonction de la flore testée, mais également pour une souche donnée en fonction du matériau utilisé comme illustré sur la figure 3.4. Ces variations d'adhésion et d'assemblage 2D peuvent être attribuées à des forces d'adhésion plus ou moins importantes entre les surfaces des corps en présence. La formation d'agrégats pourrait être liée à des interactions microorganisme/support de plus faibles amplitudes que les interactions microorganisme/microorganisme et microorganisme/liquide. À l'inverse, le recouvrement quasi total des surfaces solides pourrait être relié à des forces d'adhésion particulièrement importantes, dues notamment à des interactions attractives de type van der Waals, Lewis acide-base et électrostatiques. En présence d'interactions d'amplitude intermédiaire entre le microorganisme et le matériau, des forces latérales pourraient prendre le relais et « agréger » de façon artificielle les cellules microbiennes. Ainsi, l'adhésion de microorganismes à la surface de matériaux usuels est conduite par une compétition entre forces d'interactions microorganisme/microorganisme, microorganisme/surface et microorganisme/fluide suspendant. Le caractère mono- ou bipolaire plus ou moins marqué des



**Figure 3.3.** Différence de répartition de bactéries adhérentes fonction de la nature du support récepteur.



**Figure 3.4.** Biofilms de *Citrobacter freundii* formés sur différents matériaux (observation en microscopie électronique à balayage [INRA, UMR8207, équipe PIHM]).  
A : acier inoxydable. B : téflon.

supports récepteurs peuvent influencer non seulement sur le nombre, mais également sur la répartition des cellules adhérentes.

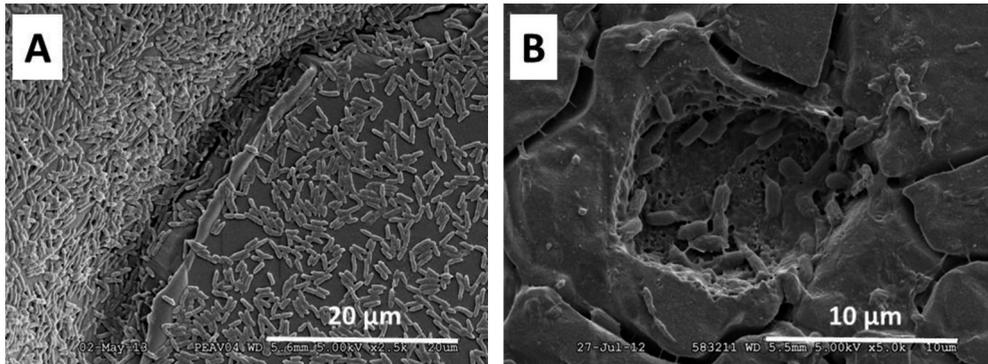
Au-delà de leur impact industriel, ces données permettent de souligner l'importance du dispositif expérimental à mettre en place pour étudier l'adhésion microbienne et la formation de biofilms. En effet, des protocoles nécessitant des passages interfaciaux liquide-air par des étapes de rinçage ou de vidange par exemple, peuvent conduire à une sous-estimation du nombre réel de cellules adhérentes, en comparaison avec des données obtenues *in situ*. L'adhésion microbienne étant la première étape dans le processus de colonisation des matériaux, cette différence dans le nombre, la distribution spatiale des germes indésirables et leur vitesse de colonisation pourrait avoir un impact sur l'architecture des biofilms microbiens susceptibles de se former par la suite et, en conséquence, sur l'efficacité des agents antimicrobiens classiquement utilisés pour assurer l'hygiène des surfaces. Conscients de l'importance des conditions opératoires à mettre en œuvre pour étudier cette biocontamination surfacique, les membres du RMT CHLEAN<sup>1</sup> se sont mobilisés pour réaliser un *Guide pour la réalisation d'essais d'adhésion microbienne première étape à la formation de biofilms* permettant de disposer d'une « méthodologie harmonisée » et validée au travers d'essais interlaboratoires ayant impliqué huit laboratoires indépendants (ACTIA-RMT CHLEAN, 2015).

### 2.1.2. La topographie des matériaux

La topographie des matériaux est aussi suspectée de jouer un rôle majeur dans leur degré de biocontamination, notamment par la présence de défauts de surface tels que des saillies (pics) ou des creux (vallées). En effet, la présence de défauts augmente la surface totale disponible pour des interactions, mais pourrait aussi procurer aux bactéries adhérentes un abri vis-à-vis des forces de cisaillement en conditions dynamiques. Des bactéries ont de fait souvent été mises en évidence dans les irrégularités de surface des matériaux (figure 3.5)

1. Les RMT sont des dispositifs mis en place par la Direction générale de l'enseignement et de la recherche (DGER) et ciblés sur une thématique donnée. Ils visent à favoriser une synergie entre différents organismes de recherche, de développement, de transfert et d'enseignement, par la mise en réseau de ressources humaines et matérielles. Les RMT en lien avec le secteur agroalimentaire sont soutenus par le ministère de l'Agriculture et de la Pêche, sous la coordination de l'ACTIA (Association de coordination technique pour l'industrie agroalimentaire).

Le RMT CHLEAN a ainsi été créé en décembre 2009. Centré sur la « conception hygiénique des équipements et la sécurité sanitaire », il regroupe 16 partenaires, acteurs du développement, du transfert technologique et de l'enseignement ; 7 d'entre eux sont issus de centres ITAI (Institut technique agro-industriel), 2 de centres interfaces et 7 d'organismes d'enseignement et de recherche.



**Figure 3.5.** Adhésion de microorganismes dans des défauts de surfaces (observation en microscopie électronique à balayage [INRA, UMR8207, équipe PIHM]).

A : biofilm de *P. fluorescens* sur polyéthylène. B : biofilm de *B. cereus* sur acier inoxydable.

telles que les crevasses, les pores, voire les joints de grains de l'acier inoxydable (Sreekumari *et al.*, 2005). Les matériaux présentant des défauts de surface sont donc souvent peu hygiéniques (Holah et Thorpe, 1990 ; Verran *et al.*, 2001). Pourtant, de nombreux travaux rapportés dans la littérature n'ont pas permis de confirmer le rôle de la topographie sur la formation d'un dépôt bactérien (Oliveira *et al.*, 2006 ; Silva *et al.*, 2008). Ce résultat est sans doute à mettre en perspective avec la difficulté de sélectionner un paramètre décrivant fidèlement la topographie (notamment le nombre et la forme des défauts de surface) et qui pourrait donc être lié au caractère hygiénique du matériau. La plupart des auteurs ont notamment utilisé le paramètre *Ra* (rugosité moyenne) pour caractériser l'état de surface des matériaux (norme ISO 4287, 1997). Malheureusement, ce paramètre est peu sensible à la présence ponctuelle de saillies ou de creux (Faille *et al.*, 2000), ce qui explique sans doute en partie les résultats contradictoires obtenus par différents auteurs sur la relation entre le *Ra* et les niveaux de contamination ou la formation des biofilms. Il ne donne pas non plus d'information sur la répartition spatiale des irrégularités du profil ni sur la forme de ces irrégularités. Malgré ce manque de données, *Ra* est spécifié dans différentes normes et recommandations traitant de conception hygiénique : norme ISO 2851-1993 (coudes et tés,  $Ra \leq 1,0 \mu\text{m}$ ) ; norme ISO 2852-1993 (raccords clamps,  $Ra \leq 1,0 \mu\text{m}$ ) ; doc. 8 EHEDG ( $Ra < 0,8 \mu\text{m}$ ).

En revanche, différents auteurs s'accordent à dire que la taille des creux, par exemple, est primordiale en termes d'hygiène des surfaces : des défauts d'une taille proche de celle des microorganismes adhérents permettraient leur piégeage en augmentant la surface de contact et en les protégeant des cisaillements dus aux écoulements (Boyd *et al.*, 2002 ; Whitehead *et al.*, 2005), alors que la présence de nombreux défauts de très petite taille ne permettrait pas à la bactérie de s'adapter morphologiquement et entraînerait un contact discontinu, d'où une diminution des forces d'interaction (Emerson *et al.*, 2006). D'autres paramètres décrivant mieux ces irrégularités de surface ont donc été évalués pour leur pertinence en hygiène des matériaux. La hauteur maximale de profil ou *Rz* (norme ISO 4287, 1997) permet de tenir compte de la présence de défauts rares et/ou de forte amplitude. Les paramètres dérivés de la courbe de portance (norme ISO 13565-2, 1996) décrivent l'allure des défauts, saillies (*Rpk*, MR1) ou creux (*Rvk*, MR2). Ces différents paramètres permettraient de mieux évaluer le caractère hygiénique des matériaux (Dürr, 2007 ; Faille *et al.*, 2000 ; Jullien *et al.*, 2003).

## 2.2. Le conditionnement de surface des matériaux

Dans la plupart des environnements, notamment dans les IAA, les propriétés de surface des matériaux évoluent rapidement en fonction de l'environnement : un film conditionnant (ou film primaire) plus ou moins homogène peut se former sur la surface des matériaux dès que ceux-ci entrent en contact avec des composés en solution, qu'ils soient organiques ou non. En effet, la plupart des molécules sont capables de s'adsorber spontanément sur des surfaces inertes. Tous les matériaux, hydrophobes ou hydrophiles, sont sujets à ce phénomène. Ce dernier débute extrêmement rapidement, quelques secondes seraient suffisantes pour observer l'apparition de molécules adsorbées, mais il peut se poursuivre sur des durées beaucoup plus longues (Jullien *et al.*, 2008). Dans les environnements agroalimentaires, ces molécules peuvent provenir des produits alimentaires eux-mêmes (Jullien *et al.*, 2008) mais aussi des produits d'hygiène tels que les détergents, surfactants (Meylheuc *et al.*, 2006 ; Shakerifard *et al.*, 2009) ou désinfectants (Sinde et Carballo, 2000). La nature du film conditionnant sera donc dépendante de la filière et des procédures d'hygiène mises en œuvre. La quantité adsorbée dépendra aussi des propriétés de la molécule elle-même, des conditions environnementales, mais aussi des propriétés du matériau récepteur, comme par exemple sa nature (Redsven *et al.*, 2007 ; Boyd *et al.*, 2001) ou son caractère hydrophobe (Boulangé-Petermann *et al.*, 2006).

La formation d'un film conditionnant peut donc entraîner des modifications importantes des propriétés de surface des matériaux. Par exemple, en 2008, Jullien et ses collaborateurs (Jullien *et al.*, 2008) ont soumis des aciers inoxydables à des cycles d'encrassement/nettoyage mimant des conditions rencontrées dans les IAA. Les auteurs ont mis en évidence que l'énergie de surface des aciers soumis à une alternance de contact avec des aliments (lait/jus de viande) puis des détergents évoluait avec le nombre de cycles et était affectée par le produit alimentaire utilisé.

L'établissement de ce film précédant l'étape d'adhésion microbienne proprement dite, les modifications des propriétés physico-chimiques de surface des matériaux induites alors, pourront affecter leur aptitude à la biocontamination (Sinde et Carballo, 2000), voire leur facilité au nettoyage (Herrera *et al.*, 2007 ; Jullien *et al.*, 2008). En présence de molécules nutritives, ce film pourra aussi servir de réservoir nutritionnel et « d'anti-stress » pour les germes contaminants, leur permettant ainsi de conserver une vie tout aussi active que prolifique (Brown *et al.*, 2014).

## 2.3. L'usure des matériaux

Les différentes conditions plus ou moins difficiles rencontrées dans les environnements agroalimentaires au cours des procédés de transformation et des procédures d'hygiène peuvent aussi induire des modifications importantes du matériau lui-même.

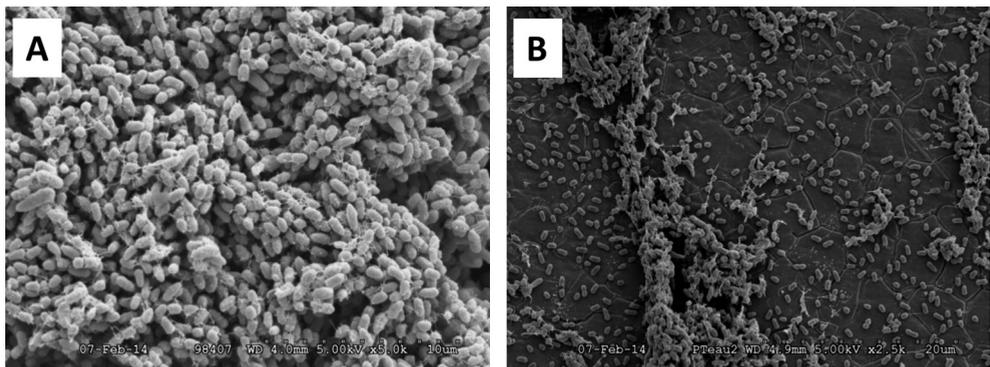
Les polymères sont notamment souvent très sensibles aux conditions environnementales telles que les hautes températures, les contraintes mécaniques et chimiques, même si la résistance à l'usure dépend du matériau. Ainsi, la plupart des polymères « vieillis » présentent en surface des trous, fissures et zones d'abrasion (Austin et Bergeron, 1995 ; Czechowski, 1990). L'utilisation d'agents oxydants au cours des procédures d'hygiène (acide peracétique, acide nitrique...), provoquera par exemple sur les joints l'apparition de fissures, voire une dissolution partielle et un ramollissement du matériau. Sur des joints (EPDM, NBR...) prélevés de chaînes de transformation des aliments, d'autres auteurs (Storgards *et al.*, 1999) ont mis en évidence que la dégradation physique due à l'usure s'accompagnait

d'une diminution de l'aptitude au nettoyage et que ces joints étaient parfois très encrassés par des biofilms bactériens. La contamination est d'ailleurs souvent observée au niveau des défauts de surfaces tels que les crevasses, mais aussi sur les surfaces en contact avec l'acier à cause d'un mauvais contact entre les deux matériaux, lié à la perte d'élasticité due aux fortes températures et aux contraintes mécaniques élevées subies (Austin et Bergeron, 1995 ; Mettler et Carpentier, 1997).

Les aciers inoxydables sont aussi sensibles à certains environnements, des modifications de la couche passive (diminution de l'épaisseur, enrichissement en chrome) pouvant à la longue être induites par des procédures de nettoyage mettant en œuvre des solutions de soude et d'acide nitrique à températures élevées (Leclercq-Perlat et Lalande, 1994), voire des détergents basiques commerciaux (Jullien *et al.*, 2008). La présence de chlorures, fréquemment rencontrés dans les produits alimentaires, peut aussi induire une corrosion localisée de surface d'aciers même considérés comme hautement résistants, comme les aciers austénitiques. Cette corrosion, si elle n'est pas maîtrisée, pourra à son tour engendrer l'apparition de défauts de surface, favorables à l'installation d'une contamination bactérienne.

## 2.4. Les propriétés des bactéries et les conditions environnementales

Outre la nature du matériau récepteur, le microorganisme impliqué (Guilbaud *et al.*, 2015) et les conditions environnementales rencontrées (écoulements (Simoes *et al.*, 2008), interfaces air-liquide (figure 3.6)) peuvent jouer un rôle clé dans la structuration des biofilms. À titre d'exemple, les biofilms formés en flux turbulent sont généralement plus stables et « rigides » (c'est-à-dire plus cohésifs et moins épais) que ceux obtenus en flux laminaire. Le flux turbulent semble également favoriser la formation de « serpentins » filamenteux, alors que le flux laminaire conduit le plus souvent à une distribution cellulaire relativement homogène (Busscher et van der Mei, 2006). De la même façon, un apport concentré en éléments nutritifs permet un développement microbien rapide conduisant à l'établissement de biofilms peu stables et assez déliquescents. Enfin, la production de mucus exocellulaire, qui donne un aspect « gélifié » aux biofilms formés, les rend aussi moins perméables à des agressions extérieures telles que des traitements désinfectants (Riazi et Matthews, 2011).



**Figure 3.6.** Biofilms de 72 h de *P. fluorescens* produits sur une surface verticale de cuve d'acier inoxydable (observation en microscopie électronique à balayage [INRA, UMR8207, équipe PIHM]).

A : biofilm de *P. fluorescens* à l'interface air/liquide. B : biofilm de *P. fluorescens* produit sur une surface immergée.

Garantir et maîtriser la sécurité sanitaire des denrées alimentaires reste une préoccupation majeure à tous les niveaux de la chaîne agroalimentaire. Cela implique notamment la gestion de l'hygiène des équipements.

Cet ouvrage de synthèse aborde l'ensemble des éléments exogènes pouvant interférer sur les conditions d'hygiène des aliments transformés. Il aide notamment à la compréhension, la qualification et la quantification des phénomènes de contamination (chimique, physique, microbiologique), d'adhésion microbienne et de formation de biofilms pouvant intervenir sur les machines et équipements des industries agroalimentaires.

Il propose et analyse les moyens à mettre en place pour éviter et éliminer les contaminations à travers :

- l'étude des **matériaux** constitutifs des machines et équipements alimentaires ;
- l'application de **principes de conception hygiénique** des outils et des environnements de production ;
- la mise en œuvre de différentes **méthodes de nettoyage-désinfection**.

Cet ouvrage est le fruit de la collaboration d'experts dans le cadre du RMT (réseau

mixte technologique) ACTIA CHLEAN (Conception hygiénique des lignes et amélioration de la nettoyabilité). Véritable guide pratique, il s'adresse aux ingénieurs et techniciens des unités de production des industries agroalimentaires et des bio-industries, aux équipementiers, aux professionnels du contrôle sanitaire (techniciens d'analyses et instances officielles) en charge de la surveillance de l'hygiène du matériel, des usines, des aliments et des bioproduits, ainsi qu'aux enseignants-chercheurs et étudiants dans le domaine de l'agroalimentaire et des bio-industries.

**MARIE-NOËLLE BELLON-FONTAINE**  
est professeur à AgroParisTech (Massy).

**THIERRY BÉNÉZECH** est directeur de recherche à l'INRA (Villeneuve d'Ascq).

**KARINE BOUTROUX** est animatrice du réseau national « Alimentation et Ateliers technologiques » à la DGER/ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (Laval).

**CHRISTOPHE HERMON** est directeur régional du Pôle Ouest du CTCPA (Nantes).