



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire,  
au Biomédical et à l'Environnement

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

En sciences biologiques

Option: microbiologie et contrôle de la qualité

Présenté Par

**SENOUSSoumia et SMILI Bouchra**

Thème

## **L'effet de l'ail sur la formation de biofilm par des souches isolées de la viande de poulet**

Soutenu le 24 Juillet 2019

*Devant le Jury composé de :*

<b>Dr.BARKA Mohamed Salih</b>	<b>MAC</b>	<b>Président</b>	<b>UAB. Tlemcen</b>
<b>Dr.BONYOUB Nor Eddine</b>	<b>MAA</b>	<b>Examineur</b>	<b>UAB. Tlemcen</b>
<b>Dr.MALEK Fadila</b>	<b>MCB</b>	<b>Examinatrice</b>	<b>UAB. Tlemcen</b>
<b>Dr.CHERIF ANTAR Asma</b>	<b>MCB</b>	<b>promotrice</b>	<b>UAB. Tlemcen</b>

**Année universitaire 2018-2019**

## **Remerciements**

Ce travail a été effectué au laboratoire «Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement » de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement à notre promotrice Mm CHERIF ANTAR Asma qui a proposée le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, nous souhaitons exprimer notre gratitude à Mr.BARKA Mohamed Salih pour nous avoir fait l'honneur de la présidence du jury, à Mm.MALEK Fadila et Mr.BONYOUB Nor Eddine pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail et d'avoir accepté d'en être les examinateurs. A Mr BENAMAR Brahim pour les soutiens, les encouragements, ces conseils et remarques.

# Dédicaces

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :*

*A Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté à réaliser ce  
travail*

*A mes très chers parents pour leur amour, leur soutien, leurs encouragements  
pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont enseignées. Je ne  
vous remercierai jamais assez. Que dieu vous procure bonheur, santé et longue  
vie. Que ce travail soit pour vous un motif de fierté et de satisfaction. Je vous  
aime énormément Maman et Papa.*

*A ma cher sœur Ikram et son marie Amine et Ma nièce Amira sirine, à mon frère  
Bilal Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de succès.*

*A mes oncles : Abdérahim, Abdérahman, Mohamed, et surtout SidAhmed que  
dieu illumine ton chemin*

*A mes amis (es) : Ichraf, Latifa, Wafaa, Amel, Bilal.*

**BOUCHRA**

# *Dédicaces*

*Je dédie cet humble travail*

*A*

*Mes très chers parents,*

*Pour leur amour, leurs encouragements et leurs sacrifices et soutien moral*

*Je les remercie d'avoir cru en mes choix et de m'avoir accompagné tout au long de  
mon parcours, Je vous aime*

*Mes frères MOHAMMEDAMINE et TAHJA YASSINE*

*Mes sœurs ASMA et ALIAA et CHAHINEZ CHAIMAA*

*Mon grand-père et ma grand-mère*

*A toute ma famille*

*Mes amies LATIFA, KHADIDJA, SARAH, RACHEDA.*

*SOUMIA*

## Liste des abréviations

**TSB** : Tryptic Soja Bouillon

**CV**:crystal violet

**TSA**: trypticase soja agar

**BHIB**: Brain Heart Infusion Broth (bouillon)

**BHIA**: Brain Heart Infusion Agar (Agar)

**PBS** : phosphate bufferd saline

**NaOH**: Hydroxyde de sodium

**GN** : gélose nutritive

**EPS**: Les exopolysaccharides

**EFSA** : European Food Safety Authority

**NAM** : N-acétylmuramique

**MET** : microscopie électronique à transmission

**CPS** : Coagulase positive

**CNS** : Coagulase négative

**CaCl<sub>2</sub>** : Chlorure de calcium

**PIA** : Polysaccharide Intercellular Adhesion

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**RCA** : Rouge Congo Agar

## Index des figures

<b>Figure 1 :</b> Observation par microscopie électronique de <i>Bacillus cereus</i> .....	4
<b>Figure 2 :</b> Distribution des types de produits alimentaires impliqués dans des intoxications causées par <i>B. cereus</i> en Europe entre 2009 et 2012 (EFSA, 2011,2012, 2013, 2014) .....	5
<b>Figure 3 :</b> Ultrastructure de la spore de <i>Bacillus cereus</i> . Échelle de mesure : 200nm.....	7
<b>Figure 4 :</b> Ultrastructure de l'exosporium des spores. Agrandissement d'une coupe de spores de <i>B.cereus</i> observée en microscopie électronique à transmission (MET). Barre d'échelle : 100 nm.....	7
<b>Figure 5 :</b> Le cycle de sporulation des bactéries sporulées. ....	8
<b>Figure 6:</b> Observation au microscope optique en contraste de phase des spores de <i>B.cereus</i> en cours de germination. (A) : Une spore réfringente, (B) : une spore germée « grise » et (C) : spore germée noire. Echelle 0,5 uM.....	9
<b>Figure 7:</b> Observation par microscope électronique à balayage de <i>Staphylococcus aureus</i> ...	11
<b>Figure 8:</b> Les étapes de formation des biofilms .....	12
<b>Figure 9:</b> Observation par microscopie électronique à balayage des biofilms de : (A) : <i>Bacillus cereus</i> âgés de 6 jours et (B) : <i>Staphylococcus aureus</i> âgés de 5 jours .....	15
<b>Figure 10:</b> Photo de la plante de l'ail « <i>Allium sativum</i> » (A) : Tige et feuille, (B) : Fleur ....	19
<b>Figure 11:</b> Coupe d'un bulbe d'ail cultivée.....	20
<b>Figure 12:</b> Bulbe d' <i>Allium sativum</i> et ses caïeux .....	20
<b>Figure 13:</b> : Protocole de formation de biofilm en microplaque à 96 puits en PVC associé à une coloration au cristal violet (au lieu de TSB on a utilisé le BHIB).....	27
<b>Figure 14:</b> Préparation de l'extrait de l'ail, (A) : fines tranches de l'ail séchées pendant 7 jours ; (B) poudre fine de l'ail obtenue après broyage ; (C) : mélange de l'ail et de l'éthanol pur ; (D) : concentration de l'extrait brut par évaporateur rotatif et (E) : extrait obtenu .....	31
<b>Figure 15:</b> Les systèmes utilisés pour la formation des biofilms .....	32
<b>Figure 16:</b> la formation de biofilms par les souches de <i>B. cereus</i> sur microplaque de titration. ....	34
<b>Figure 17:</b> la formation de biofilms par les souches de <i>Staphylococcus aureus</i> sur microplaque de titration. ....	34
<b>Figure 18:</b> Aspects des colonies des souches <i>S.aureus</i> 8C, 25C et la 12C, indiquant la Production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo.....	35

<b>Figure 19:</b> Aspects des colonies des souches <i>B.cereus</i> indiquant l'absence de Production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo .....	35
<b>Figure 20 :</b> Aspects des colonies des souches <i>staphylococcus aureus</i> indiquant l'absence de production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo .....	35
<b>Figure 21:</b> Quantification de la formation de biofilm (DO <sub>545nm</sub> ) sur des surfaces d'acier inoxydable après une croissance statique des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> à 37°C dans le milieu BHIB après 24h, 48 h et 72 h d'incubation.....	37
<b>Figure 22:</b> Quantification de la formation de biofilm (DO <sub>545nm</sub> ) sur des surfaces d'acier inoxydable après une croissance statique des souches de <i>Bacillus cereus</i> à 37°C dans le milieu BHIB après 24h , 48 h , et 72 h d'incubation.....	38
<b>Figure 23:</b> Effet inhibiteur de l' <i>Allium sativum</i> sur le biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42

## Indes des tableaux

<b>Tableau 1:</b> classification de l'ail .....	19
<b>Tableau 2:</b> composition de l'ail frais .....	21
<b>Tableau 3:</b> capacité de formation de biofilms par les souches de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus cereus</i> sur microplaque de titration .....	34
<b>Tableau 4:</b> capacité de production de "Slime" sur gélose au rouge Congo par les souches de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus cereus</i> . .....	36
<b>Tableau 5:</b> Classement des souches testées pour leur capacité à former le biofilm selon le temps d'incubation. ....	36



## Table des matières

Liste des abréviations	
Indxdes figures	
Indes des tableaux	
Introduction générale.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique .....	1
Chapitre 1 : Généralités sur <i>Bacillus cereus</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> .....	3
1.1. Généralités sur <i>Bacillus cereus</i> .....	3
1.1.1. Définition de <i>Bacillus cereus</i> .....	3
1.1.2. Pathogénicité de <i>Bacillus cereus</i> .....	4
1.1.3. La spore de <i>Bacillus cereus</i> .....	5
1.1.3.1. Structure de la spore .....	6
1.1.3.2. Sporulation .....	7
1.1.3.3. Germination des spores .....	9
1.2. Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
1.2.1. Définition de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
1.2.2. Pathogénicité de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
Chapitre 2 : Les biofilms en agroalimentaire .....	12
2.1. Définition .....	12
2.2. Les étapes de la formation du biofilm .....	12
2.2.1. Film de conditionnement .....	13
2.2.2. Adhésion réversible et irréversible .....	13
2.2.3. Formation de microcolonies.....	15
2.2.4. Formation de matrice extracellulaire et maturation .....	15
2.2.5. Détachement et dispersion .....	15
2.3. Propriétés de biofilm en industries agroalimentaires .....	15
2.3.1. Biofilms de <i>Bacillus cereus</i> .....	16

2.3.2. Biofilms de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
Chapitre 3 : Effet de composés organiques sur les biofilms : cas de l'ail « <i>Allium sativum</i> ». 18	
3.1. Définition et taxonomie de l'ail <i>Allium sativum</i> .....	18
3.2. Les principaux constituants phytochimiques de l'ail : .....	20
3.2.1. Les composés soufrés .....	22
3.2.2. Les composés non soufrés .....	22
3.3. Utilisations de l'ail .....	22
3.4. L'effet d' <i>Allium sativum</i> sur les biofilms de <i>Bacillus cereus</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> ..	23
Partie II : Matériel et méthodes .....	24
Chapitre 1 : Évolution de la capacité de la formation de biofilm .....	25
1.1. Origine des souches .....	25
1.2. Revivification des souches .....	25
1.3. Observation microscopique .....	25
1.4. Conservation des souches .....	25
1.5. Évaluation de la capacité de formation de biofilm.....	26
1.5.1. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC) : .....	26
1.5.1.1. Principe de la technique .....	26
1.5.1.2. Préparation de la suspension sporale .....	26
1.5.1.3. Préparation de la suspension bactérienne .....	26
1.5.1.4. Protocole .....	27
1.5.2. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo .....	28
1.5.2.1. Principe de la technique .....	28
1.5.2.2. Préparation de la suspension sporale et la suspension bactérienne .....	28
1.5.2.3. Protocole .....	28
1.5.3.2. Préparation de la suspension sporale et la suspension bactérienne .....	29

Chapitre 2 : Évolution de l'effet l'ail « <i>Allium sativum</i> » sur des biofilms à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
2.1. Préparation de l'extrait de l'ail.....	30
2.2. Développement du biofilm mono espèce à <i>Staphylococcus aureus</i> en système Batch ...	31
2.2.1. Préparation des systèmes .....	31
2.2.5. Dénombrement des bactéries attachées sur les lames après les traitements.....	32
Partie III : Résultats et discussion .....	32
Chapitre 1 : Évolution de la capacité de la formation de biofilm .....	32
1.1. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC) .....	33
1.2. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo .....	35
1.3. Évaluation de la capacité à former des biofilms sur les surfaces en acier inoxydable .....	36
Chapitre 2 : Évolution de l'effet l'ail « <i>Allium sativum</i> » sur des biofilms à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42



*Introduction*  
*générale*

Au cours des dernières années, la consommation de la viande de poule a continué de progresser, tant en Algérie que dans tous les pays industrialisés. La viande de poulet est une des plus populaires puisqu'elle représente une excellente source de protéines, et contrairement à la viande rouge, n'est pas reconnue pour être associée à des risques augmentés de certaines maladies (**Kaci, 2014**).

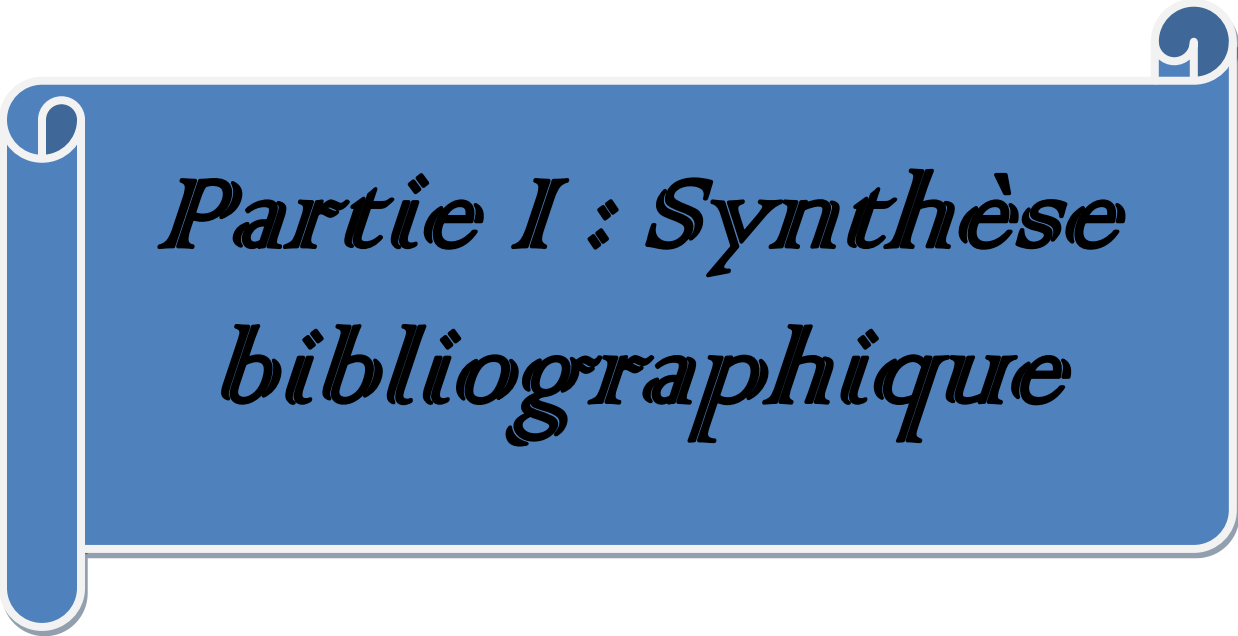
La contamination microbienne de la surface des équipements utilisés en industrie agroalimentaire est à l'origine de problèmes d'altération de la qualité des produits alimentaires ainsi que de la perte ou la diminution des rendements et l'augmentation des coûts de production. Ces microorganismes peuvent non seulement entraîner l'altération et la dégradation prématurée des produits au cours de la fabrication mais également se trouver aussi dans le produit fini et par conséquent être la cause potentielle de toxico-infections alimentaires. Cette contamination est due à l'adhésion bactérienne aux surfaces des équipements qui favorise la formation de biofilms résistants aux agents antimicrobiens. Ces biofilms formés sont difficiles à éliminer, ce qui constitue un vrai problème en industrie agroalimentaire (**Iniguez-Moreno et al., 2019 ; CHERIF ANTAR, 2015**)

La présence de biofilms dans l'industrie de viande est un problème majeur en termes de qualité, de technologie et potentiellement de santé publique. Les biofilms peuvent se former sur différents types de surface et particulièrement sur l'acier inoxydable qui compose la majorité des équipements des industries agroalimentaires. Les biofilms comportent un écosystème microbien complexe qui inclut des microorganismes pathogènes et/ou d'altération. Ces microorganismes indésirables sont responsables de rejet des produits, des pertes économiques et des maladies d'origine alimentaire. Pour ces raisons, des procédés de nettoyage et désinfection sont régulièrement mis en œuvre. L'efficacité de ces traitements reste toutefois variable (**Giaouris et al., 2013**). En effet, la recherche de produits alternatifs se poursuit et les composés phytochimiques naturels isolés de plantes utilisées en médecine traditionnelle sont considérés comme de bonnes alternatives aux produits chimiques synthétiques. Des substances naturelles telles que l'ail qui a montré une activité anti-biofilm. Depuis quelques années, un intérêt accru est porté sur des molécules d'origine naturelle ayant des propriétés antibactérienne et anti biofilms. L'*Allium sativum* a été utilisé pendant des siècles dans la cuisine comme aromatisants et dans la médecine traditionnelle. Ces dernières années, il est principalement étudié pour leurs propriétés biologiques telles qu'antioxydant, antimicrobien, antidiabétique et anti-biofilm (**Girish et al., 2019**)

L'objectif de ce travail est d'une part évaluer la capacité de formation de biofilm par des souches isolées de la viande de poulet hachée et du Doner Kebab commercialisé dans la région de Tlemcen. D'autre part, tester l'effet de l'*Allium sativum* à différentes concentrations et à des différents temps de traitements sur des biofilms matures formés par des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de la viande de poulet commercialisée dans la région de Tlemcen.

Ce mémoire est divisé en trois parties :

Dans une première partie nous avons fait un point sur l'état des connaissances sur les biofilms, l'*Allium sativum* ainsi qu'un rappel sur les deux bactéries que nous avons étudié, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. Puis nous avons expliqué la méthodologie envisagée dans la deuxième partie. La dernière partie est consacrée aux résultats obtenus. Pour finir, nous avons présenté une conclusion avec des perspectives.



*Partie I : Synthèse  
bibliographique*

## Chapitre 1 : Généralités sur *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*

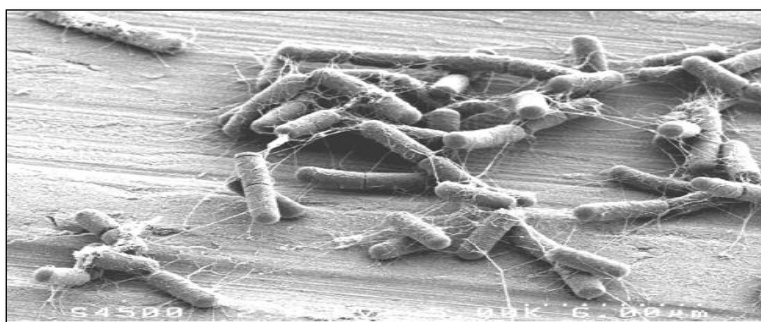
### 1.1. Généralités sur *Bacillus cereus* :

Le genre *Bacillus* comprenait à l'origine toutes les bactéries en forme de bâtonnets, mais ne comprend maintenant que de grandes bacilles à Gram positif, qui forment des chaînes et qui poussent généralement de façon aérobie ou anaérobie (Thwaiteh et Atkins, 2012). *Bacillus* est un genre très diversifié avec plus de 200 espèces (Tanget al., 2015). Le genre *Bacillus* englobe plusieurs espèces y compris *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus thuringiensis* connu sur leur pathogénicité pour les humains (Celandroni et al., 2016 ;Thwaiteh et Atkins, 2012).

#### 1.1.1. Définition de *Bacillus cereus* :

L'espèce *Bacillus cereus* appartient au groupe appelé « *Bacillus cereus* ». Ce groupe comprend les bâtonnets à Gram positif, aérobies ou anaérobies facultatives, sporulantes dont leurs caractéristiques sont indiquées dans le tableau 1 (Marrollo, 2016). *Bacillus cereus* (figure 1) est une bactérie motile, catalase positif, bêta-hémolytique qui métabolise le mannitol et génère des spores (Ceuppens et al., 2013). La température de croissance s'étendant de 10 à 48°C avec un optimum qui se situe entre 28 et 35°C. Les valeurs du pH varient de 4,9 à 9,3 alors que l'activité de l'eau de 0,92 à 1 (Abrahaet al., 2017). C'est une bactérie fréquente dans les aliments et les environnements naturels (Nam et al., 2014). *Bacillus cereus* est classée comme une espèce de grande taille avec une largeur cellulaire supérieure à 0,9 µm et dont les spores ne gonflent pas significativement le sporange (Pontieri, 2016).





**Figure 1** : Observation par microscopie électronique de *Bacillus cereus* (Majed, 2017)

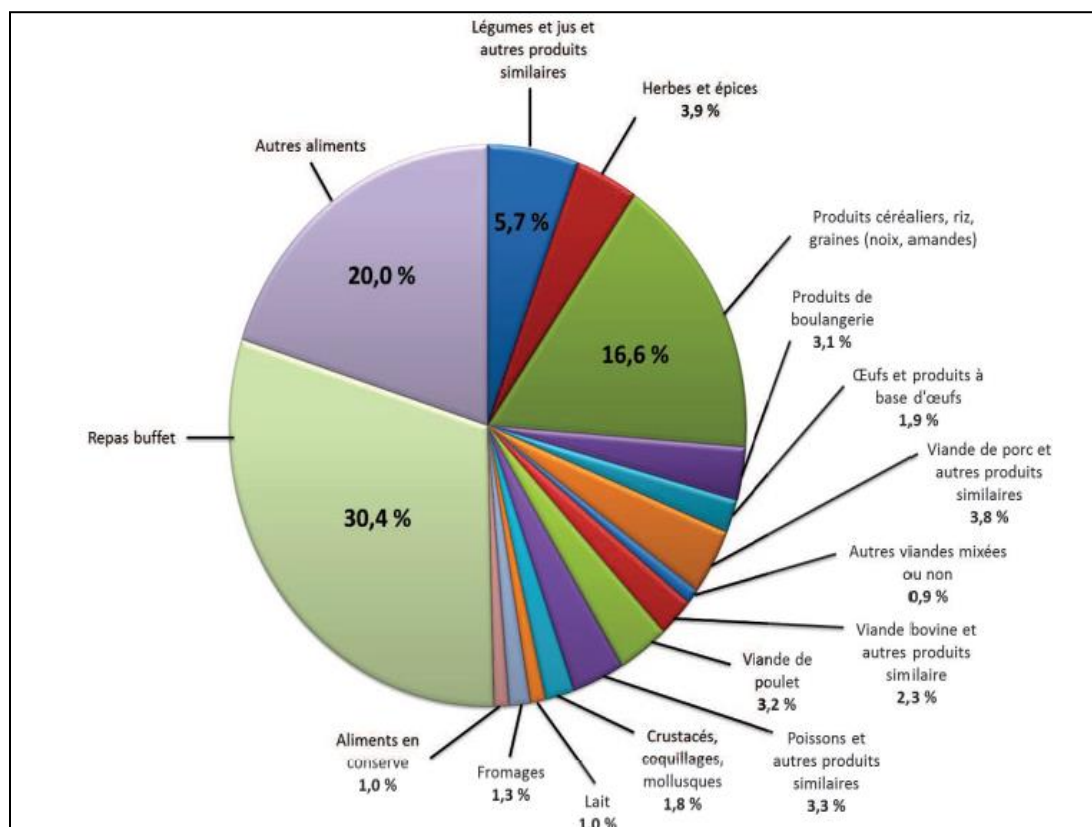
### 1.1.2. Pathogénicité de *Bacillus cereus* :

*Bacillus cereus* est un pathogène qui peut causer des maladies d'origine alimentaire. La figure 2 montre la distribution des produits alimentaires qui sont impliqués dans des intoxications causées par *Bacillus cereus* en Europe de 2009 au 2012. C'est un germe largement diffusé dans l'environnement et les produits alimentaires. Il peut former des spores capables de survivre aux températures normales de cuisson (Hwang et Huang, 2019). Certains facteurs de virulence de *B. cereus* sont exprimés pendant les premiers stades de la sporulation (Faïlle et al., 2014).

Le potentiel pathogène de *Bacillus cereus* a été lié à la sécrétion de plusieurs protéines de virulence (Jeßberger et al., 2015 ; Senesi et Ghelardi, 2010). *B. cereus* peut produire des toxines causant deux types d'intoxication alimentaire : l'intoxication émétique et diarrhéique. Les facteurs de motilité de *Bacillus cereus* sont aussi des facteurs de pathogénicité (Senesi, et al., 2010). Les protéines de virulence comprennent des hémolysines, phospholipases, toxines trimériques (hémolysine BL, HBL ; entérotoxine non hémolytique, NHE), la cytotoxine K (cytk) et les protéases (Jeßberger et al., 2015 ; Celandroni et al., 2014 ; Ramarao et Sanchis, 2013 ; Senesi et Ghelardi, 2010). HBL, NHE et cytk agissent comme des protéines destructrices ou réactives tissulaires qui peuvent endommager la membrane plasmique de plusieurs cellules (Senesi et Ghelardi, 2010).

Les souches pathogènes de *B. cereus* peuvent causer une série d'infections chez les humains, les toxi-infections dont les différents types de produits impliqués sont indiqués dans la figure 2. Ces intoxications sont dues à l'action de la toxine Hbl, de la toxine Nhe et de la cytotoxine K produite par le micro-organisme dans le tube digestif. Cela se produit lorsque les

spores ou les cellules végétatives de *B. cereus* survivent à la barrière pH de l'estomac et atteignent le petit intestin où elles produisent ses toxines en quantités suffisantes (**Berthold-Pluta et al., 2015**). De plus, *B. cereus* produit des biofilms qui peuvent jouer un rôle majeur dans l'attachement aux cathéters (**Celandroni, et al., 2016**).



**Figure 2:** Distribution des types de produits alimentaires impliqués dans des intoxications causées par *B. cereus* en Europe entre 2009 et 2012 (**EFSA, 2011,2012, 2013, 2014**)

### 1.1.3. La spore de *Bacillus cereus* :

Les spores de certaines espèces de *Bacillus* sont des agents majeurs de la détérioration alimentaire et des maladies d'origine alimentaire (**Coleman et al., 2010**). Généralement les bactéries du genre *Bacillus* sporulent en aérobiose (**Talukdar et al., 2015**). *B. cereus* forme des spores comme une stratégie principale pour survivre (**Hayrapetyan et al., 2016**), même au sein des biofilms (**Hayrapetyan et al., 2015 ; Faille et al., 2014**). Les endospores bactériennes sont formées en réponse à l'épuisement des nutriments durant la croissance végétative (**Liu, 2014**). Elles sont résistantes à plusieurs formes de stress environnemental qui seraient autrement mortelles pour les cellules végétatives (**Zhou et al., 2017**). Les endospores

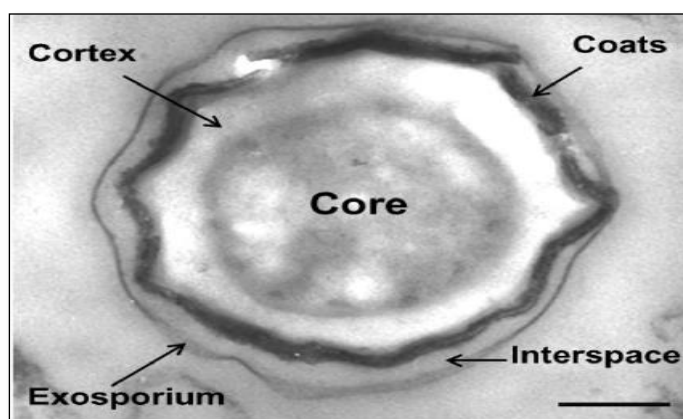
sont métaboliquement dormantes et contiennent peu ou pas de composés à forte énergie tels que NADH et ATP. Il y a peu ou pas de métabolisme détectable des composés exogènes ou endogènes (**Liu, 2014**).

**1.1.3.1. Structure de la spore :** Comparée aux cellules en croissance, il n'est pas surprenant que la spore ait une structure très différente. De l'extérieur à l'intérieur, elle se compose comme l'indique la figure 3 de : l'exosporium, les manteaux, la membrane externe, le cortex, la paroi cellulaire germinale, la membrane interne et le noyau central (**Liu, 2014**).

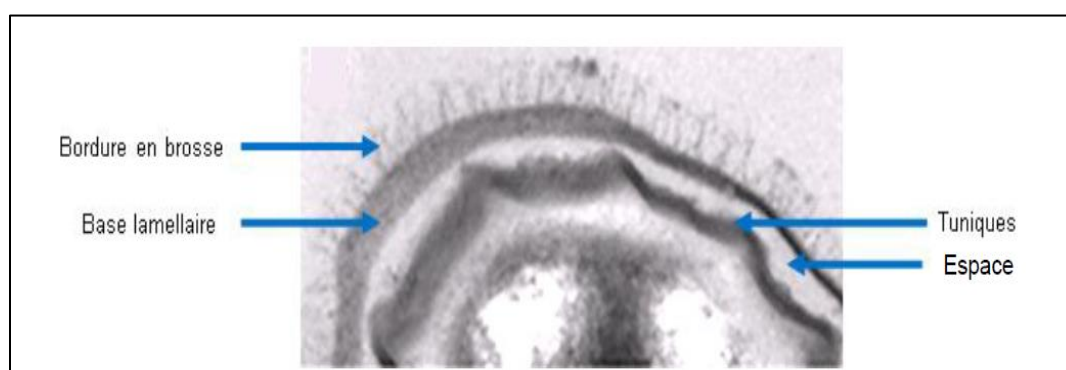
Les spores du *B. cereus* sont caractérisées par la présence d'une couche externe dite exosporium (figure 4), qui les entoure. Cette couche est suspectée de jouer un rôle majeur dans l'adhésion des spores aux différentes surfaces (**Lequette et al., 2011**). L'exosporium est composé d'environ 20 protéines et glycoprotéines (43-52 % du poids sec) mais il contient aussi 15-18 % de lipides, 20-22 % d'hydrates de carbone et 4 % de cendres contenant à la fois du calcium, du magnésium et quelques composés indéterminés (**Leggett et al., 2012**). L'exosporium est décrit, chez *Bacillus* comme une masse transparente souple qui ne semble pas être attachée au reste de la surface de la spore. D'une épaisseur de 25 à 40 nm, il est composé d'une partie inférieure lamellaire d'une épaisseur de 190 Å et d'une partie supérieure plus aérienne composée d'appendice de 10 nm de diamètre formant une bordure en brosse (**Lequette et al., 2011**).

Les filaments de la bordure en brosse de l'exosporium sont principalement constitués de la protéine BclA (**Lequette et al., 2011**). Au total, une vingtaine de protéines a été identifiée dans l'exosporium de *B. cereus* mais peu d'information existe sur leurs fonctions (**Abhyankar et al., 2013**). Une structure complexe de nature protéique se construit autour du cortex formant les tuniques. Le rôle spécifique de la plupart des protéines des tuniques n'est pas connu. Cependant, on définit un groupe particulier de protéines dites morphogénétiques qui jouent un rôle important dans la formation de la structure des spores. Chez *B. cereus*, ces protéines sont les protéines SpoIVA, CotE, CotO, SafA (ExsA), SpoVM, SpoVID, CotH et CotG (**McKenney et al., 2013**).

Le cortex des spores est composé de peptidoglycane qui, bien que, largement similaire à celui des cellules végétatives, possède quelques modifications spécifiques, comme l'absence totale d'acide teichoïque dans les résidus N-acétylmuramique (NAM) (**Leggett et al., 2012**).



**Figure 3 :** Ultrastructure de la spore de *Bacillus cereus*. Échelle de mesure : 200nm. (Bressuire-Isoard, 2015)



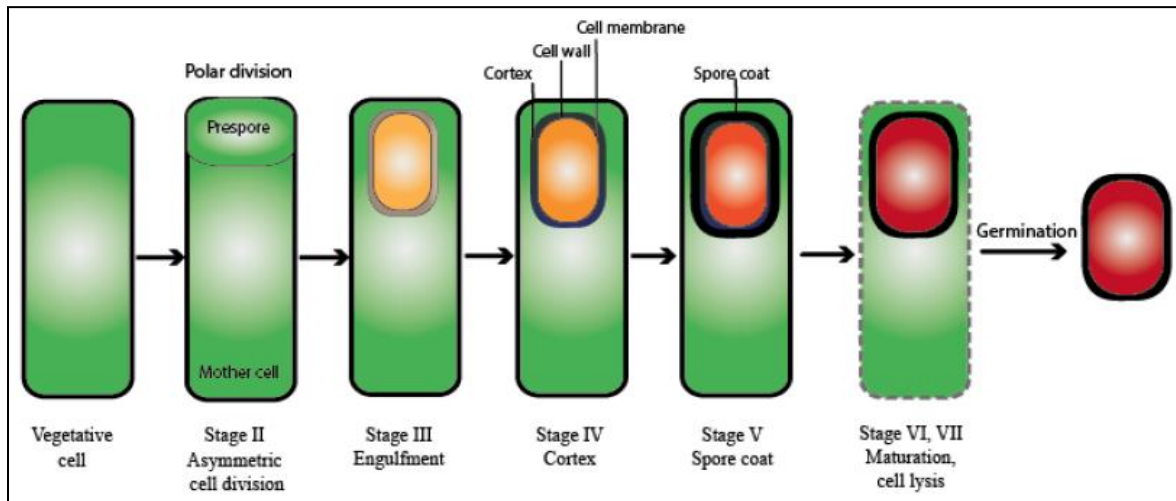
**Figure 4:** Ultrastructure de l'exosporium des spores. Agrandissement d'une coupe de spores de *B.cereus* observée en microscopie électronique à transmission (MET). Barre d'échelle : 100 nm (Lequette *et al.*, 2011)

**1.1.3.2. Sporulation :** Le processus de sporulation et les propriétés des spores sont influencés par les conditions environnementales (Sella *et al.*, 2014). Pendant le processus de sporulation, les cellules végétatives réduisent leur masse, préservant l'information génétique essentielle et produisant des spores plus denses et plus petites que la cellule parentale (Zhou *et al.*, 2017). Les étapes morphologiques de la formation des spores sont similaires chez toutes les bactéries sporulantes comme l'indique la figure 5 (Talukdar *et al.*, 2015). Le cycle de sporulation des espèces de *Bacillus* se compose des phases suivantes (Sella *et al.*, 2014 ; Liu, 2014 ; Errington, 2003 ; Higgins et Dworkin, 2012 ; Setlow, 2007) :

- **Phase I :** les matières nucléaires sont disposées axialement en filaments.

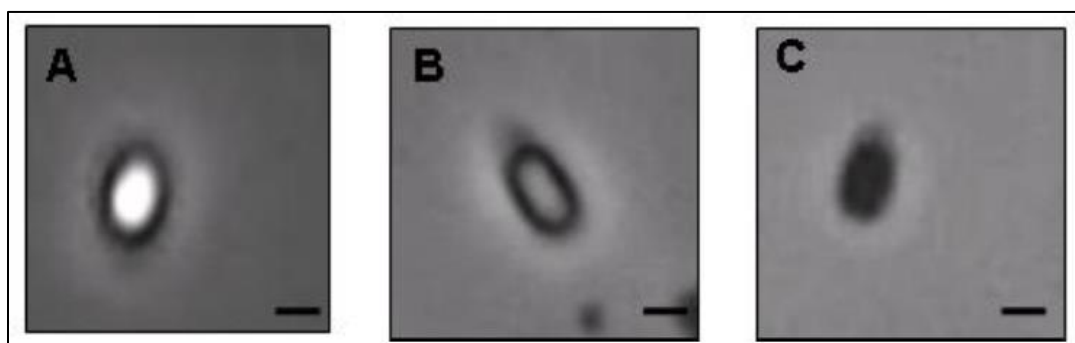
## Partie I. Synthèse bibliographique

- **Phase II** : l'achèvement de la ségrégation de l'ADN se produit simultanément à l'invagination de la membrane plasmatique en position asymétrie, près d'un pôle de la cellule, formant un septum.
- **Phase III** : le septum commence à se courber, et la spore immature est entourée d'une double membrane de la cellule mère dans un processus d'engloutissement, semblable à la phagocytose.
- **Phase IV** : La cellule mère intervient dans le développement de la spore. Les couches protéiques internes et externes de la spore sont assemblées, et le cortex composé d'une couche épaisse de peptidoglycanes entre les membranes internes et externes de la spore est synthétisé. De plus, le dipicolinate de calcium s'accumule dans le noyau.
- **Étape V** : Le manteau de spore est synthétisé, composé environ de 80 protéines déposées par la cellule mère, et disposées en couches internes et externes.
- **Phase VI** : La maturation des spores se produit à ce stade et les spores deviennent résistantes à la chaleur et aux solvants organiques.
- **Phase VII** : Les enzymes lytiques perturbent la cellule mère en libérant les spores matures.



**Figure 5** :Le cycle de sporulation des bactéries sporulées (Pandey, 2014).

**1.1.3.3. Germination des spores :** La germination est initiée en réponse à l'interaction entre les germinants et leurs récepteurs situés au niveau de la membrane interne de la spore (Abee *et al.*, 2011). Il existe deux types d'inducteurs de germination : des germinants de type nutriments (acides aminés, sucres) et autres tel que la haute pression, des agents chimiques et des surfactants. Les germinants sont sensiblement différents d'une espèce à une autre (Setlow, 2014 ; Setlow, 2013 ; Paredes-Sabja *et al.*, 2011). Les facteurs menant à la germination des spores varient considérablement, mais des composants spécifiques, appelés germinants, comprenant la L-alanine, le glucose ou l'inosine peuvent se lier aux récepteurs GerA et GerB situés dans la membrane interne de l'enveloppe de la spore et induire la germination (Soni *et al.*, 2019). La liaison des germinants aux protéines Ger chez *B. cereus* initie une cascade de réactions conduisant à l'expression des protéines nécessaires à la transformation des spores dormantes en cellules végétatives. L'effet des germinants est très spécifique pour chaque espèce (Soni *et al.*, 2019). La figure ci-dessous montre les spores de *B. cereus* observées par microscope optique en cours de germination.



**Figure 6:** Observation au microscope optique en contraste de phase des spores de *B. cereus* en cours de germination. (A) : Une spore réfringente, (B) : une spore germée « grise » et (C) : spore germée noire. Echelle 0,5 uM (Bressuire-Isoard, 2015).

**1.1.3.4. Caractéristiques des spores de *Bacillus cereus* :** Les spores sont des formes de vie très résistantes par rapport aux spores de moisissure et de levure. Leur inactivation complète est souvent impossible sans altérer la qualité de l'aliment (Evelyn et Silva, 2018 ; Daryaei *et al.*, 2013). Elles sont omniprésentes dans la nature et peuvent survivre à la fois aux stress chimiques et physiques, aux processus de conservation des aliments et aux conditions environnementales défavorables telles que la pression, la chaleur, les bactéricides, les rayons UV, l'absence d'eau et de nutriments, et peuvent rester inactives pendant des siècles. Les différentes couches de spores

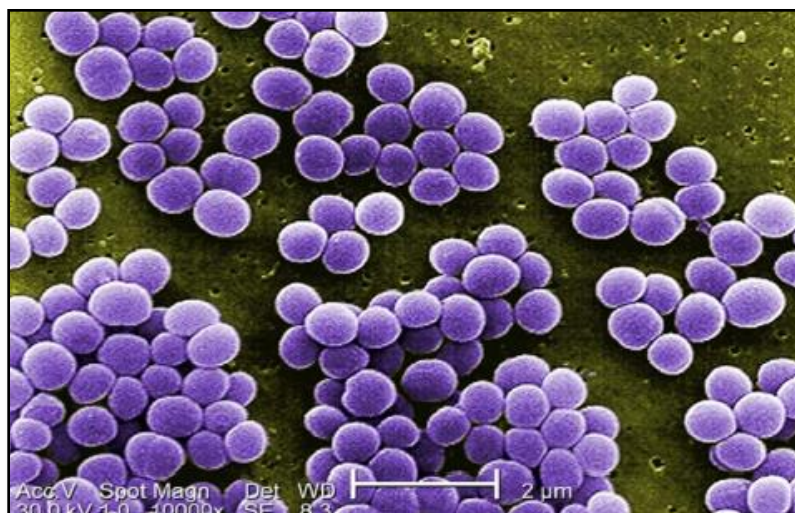
bactériennes sont composées de protéines. Celles-ci aident à fournir une protection contre une variété de stress, du coup, la résistance des spores est une conséquence de leur structure (Abhyankar *et al.*, 2018 ; Pereira et Sant Ana, 2018).

### 1.2. Généralités sur *Staphylococcus aureus* :

Le genre *Staphylococcus* comprend 52 espèces et 28 sous-espèces (Podkowik *et al.*, 2016), qui se produisent fréquemment comme colonisateurs commensaux des muqueuses cutanées des animaux à sang chaud (Becker *et al.*, 2014). En ce qui concerne la capacité à coaguler le sang, les staphylocoques se divisent en deux groupes : coagulase positive (CPS) et coagulase négative (CNS). Cependant, cette division ne reflète pas l'hétérogénéité de la pathogénicité et les préférences des habitats. Pendant des décennies, la plus grande partie de la recherche a été axée sur *Staphylococcus aureus* coagulase positive. Par conséquent, ses facteurs de virulence, la structure de population, les interactions pathogène-hôte et la capacité de causer des infections potentiellement mortelles restent caractérisés dans la plus grande mesure (Podkowik *et al.*, 2016). Les Staphylocoques sont des agents pathogènes qui causent des infections dont *S. aureus* est bien connu pour sa capacité à provoquer des intoxications alimentaires due à la sécrétion d'entérotoxines thermostables (warneret *al.*, 2017; Hennekinne *et al.*, 2012).

#### 1.2.1. Définition de *Staphylococcus aureus* :

*Staphylococcus aureus* est une bactérie de forme sphérique (figure 7) à Gram positif, d'un diamètre allant de 0,5 à 1,5 $\mu$ , anaérobies, non génératrices de spores, non motile (Speziale et Geoghegan, 2015 ; Tonget *al.*, 2015). L'identification de cette espèce est basée sur la production de coagulase, qui est produite par presque toutes les souches (Castro *et al.*, 2018). *Staphylococcus aureus* est répandu dans les aliments d'origine animale, particulièrement dans les produits de viande de poulet cru, en raison de l'exposition directe et de la contamination croisée aux stades de l'élevage, de l'abattage et de la transformation, du transport, de l'entreposage et de la commercialisation (Wang *et al.*, 2017).



**Figure 7:** Observation par microscope électronique à balayage de *Staphylococcus aureus* (Rubab *et al.*, 2018)

### 1.2.2. Pathogénicité de *Staphylococcus aureus* :

*Staphylococcus aureus* est un pathogène opportuniste chez l'humain et d'autres espèces animales. L'intoxication alimentaire due au staphylocoque est la troisième cause des maladies d'origine alimentaire dans le monde (Aydin *et al.*, 2011). *Staphylococcus aureus* résiste aux antibiotiques chez les animaux destinés à l'alimentation et les aliments d'origine animale en raison de son association commensale.

*Staphylococcus aureus* est un pathogène qui peut produire plusieurs toxines, y compris la toxine alpha, les toxines exfoliative (ETA, ETB,...), des entérotoxines, et de la leucocidine de Panton–Valentine leucocidin (Hischebeth *et al.*, 2019). *Staphylococcus aureus* produit des enzymes telles que la catalase et la coagulase qui sont considérées comme des agents de virulence. La catalase est une enzyme de protéine d'hème qui décompose le peroxyde d'hydrogène produit par des phagocytes. La production de la catalase ne semble pas être essentielle pour la croissance de *Staphylococcus aureus* mais c'est un mécanisme de défense contre la destruction du micro-organisme (Dezfulian *et al.*, 2010). Des gènes conférant une résistance à toutes les classes d'antibiotiques ont été détectés chez *Staphylococcus aureus* et sont habituellement localisés sur des éléments génétiques mobiles, qui sont capables de se transférer entre différentes espèces bactériennes et de se propager davantage (Schwarz *et al.*, 2015). Les gènes conférant la résistance à divers antibiotiques, tels que les tétracyclines, les amphénicolés, les macrolides, les lincosamides et la streptogramine, et les aminoglycosides, ont aussi été identifiés sur des plasmides staphylococciques (Fisarova *et al.*, 2018).



## Chapitre 2 : Les biofilms en agroalimentaire

### 2.1. Définition :

Les biofilms sont définis comme une communauté de cellules microbienne attachées à un substrat, à une interface ou les unes aux autres, et coexistant dans une matrice (Xu *et al.*, 2019 ; Ripolles-Avila *et al.*, 2018). Cette matrice est autoproduite composée de substances polymériques extracellulaires (EPS) aussi connue sous le nom de «slime» (Flemming, 2011 ; Abee *et al.*, 2011). Au sein des biofilms, des canaux se forment tout en facilitant le transport de nutriments, d'enzymes, de métabolites et afin élimination des déchets à l'intérieur et à l'extérieur du biofilm. Cette architecture est essentielle pour répondre aux besoins des biofilms multi-espèces, ce qui permet de satisfaire aux exigences de chaque cellule et maintenir sa viabilité (Guinta, 2010).

### 2.2. Les étapes de la formation du biofilm :

Les biofilms ont une structure organisée facilitant la survie bactérienne dans un pH extrême, pauvre en nutriments ou autrement hostile et conférant une résistance des bactéries aux agents antibactériens. Ce processus se déroule généralement en cinq (figure 8) étapes décrites ci-dessous (Gingichashvili *et al.*, 2017) :

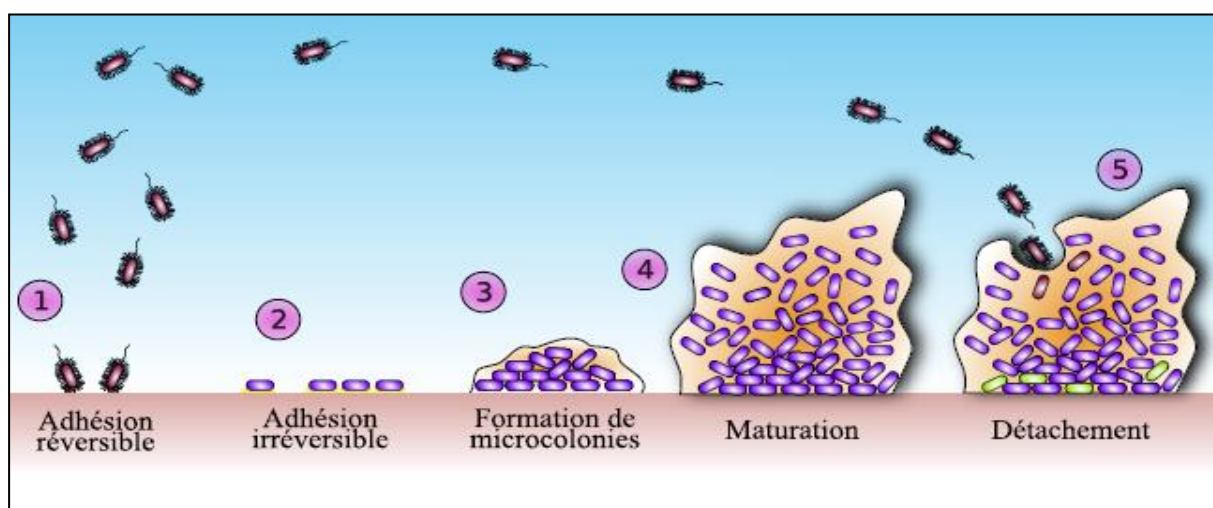


Figure 8: Les étapes de formation des biofilms (Héloïse Boudarel, 2018)

**2.2.1. Film de conditionnement :** Dès les premières secondes qui suivent l'immersion d'un support en milieu naturel, il y aura une adsorption spontanée de molécules organiques et d'ions (protéines, fragments protéiques, glucides, lipides...) qui recouvrent toutes les surfaces exposées. C'est le phénomène de conditionnement qui est également appelé « film conditionnant » ou encore « film primaire » (**Diaby, 2017**). La surface de tout support exposée à un milieu aqueux sera inévitablement et presque immédiatement conditionnée ou recouverte de polymères provenant de ce milieu. L'adsorption de ces molécules provoque des modifications des propriétés physico-chimiques de la surface du support et affecte l'adhésion bactérienne qui sera ainsi favorisée ou inhibée (**Lorites et al., 2011**). Cette dernière propriété est utilisée comme approche dans la lutte préventive contre l'adhésion microbienne et la formation de biofilm par la modification des surfaces (**Bazaka et al., 2012 ; Yoshinari et al., 2010**).

**2.2.2. Adhésion réversible et irréversible :** Pendant le premier attachement des micro-organismes à la surface conditionnée, la disponibilité nutritive et le stade de croissance des bactéries elles-mêmes affectent cette adhésion bactérienne. Durant l'adhésion initiale aux surfaces, certains mécanismes complexes soit physicochimiques ou biologiques interviennent (**Hamedi, 2015**). Parmi ces mécanismes, la motilité flagellaire est impliquée par 4 mécanismes :

- La motilité est un élément clé de la formation d'un biofilm lorsque la bactérie doit atteindre l'endroit approprié pour la formation d'un biofilm à l'interface air-liquide (dans des conditions statiques) (**Houry et al., 2009**). La suppression de la motilité dans une souche qui forme des biofilms à l'interface air-liquide a entraîné la formation de biofilms submergés (**Hayrapetyan et al., 2015**).
- Les bactéries mobiles à l'intérieur de biofilm créent des canaux dans la matrice, conduisant à une augmentation des échanges de nutriments et, à l'inverse, favorisant la pénétration de substances toxiques (**Tilahun et al., 2016 ; Houry et al., 2012**).
- Les bactéries mobiles planctoniques peuvent pénétrer dans le biofilm et augmenter sa biomasse (**Houry et al., 2012**).
- Les bactéries mobiles localisées au bord du biofilm croissant étendent la surface couverte par cette structure résultant en une expansion de la colonie, bien que la transcription de la flagelline diminue de façon continue avec l'âge du biofilm (**Houry et al., 2009**).

## *Partie I. Synthèse bibliographique*

Les cellules s'adsorbent sur une surface pendant un certain temps, mais peuvent se détacher (**Muller et Guaguere, 2014**). Du coup, il existe deux types d'adhésion bactérienne qui se suivent:

- Adhésion réversible qui est réalisée par diverses forces d'interaction soit interactions hydrophobes, liaisons de Van der Waals, forces hydrodynamiques et interactions répulsives électrostatique. Ces forces permettent les interactions entre les cellules bactériennes et la surface (**Merzougui et al., 2013**).
- Adhésion irréversible qui dépend du temps et fait appel à sécrétion d'exopolymères par les bactéries et permet de consolider leur fixation au support (**Kostakioti et al., 2013**). Cette phase est caractérisée par des interactions de courte distance telles que les interactions hydrophobes, acides-base de Lewis, et la formation de dipôle. Ces interactions sont plus fortes et apparaissent lorsque la distance devient inférieure à 3. Très simplement dit, les bactéries qui se rapprochent étroitement de la surface lui deviennent attachées (**Karaten et Watnick, 2009**).

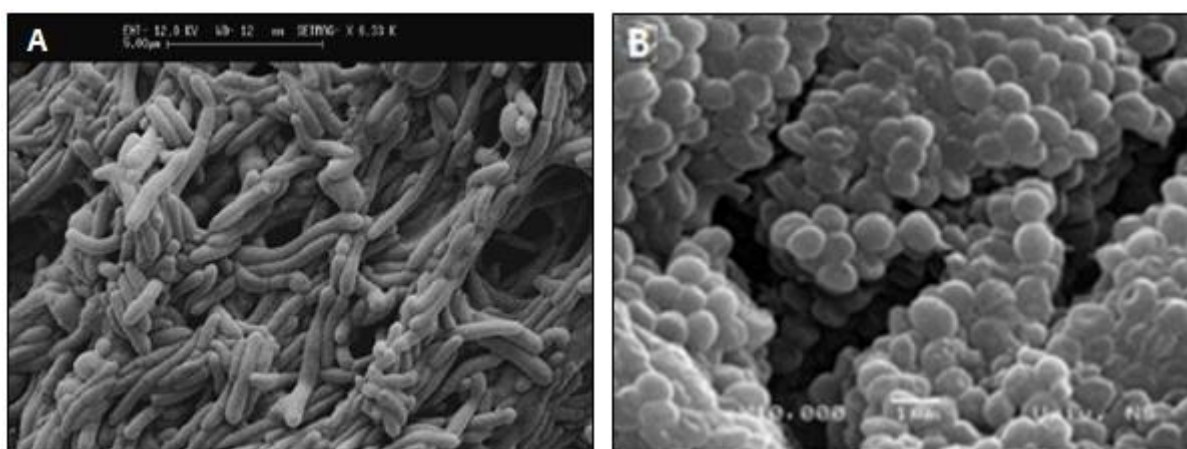
**2.2.3. Formation de microcolonies :** Une fois l'étape d'adhésion irréversible au surface est réalisée, les bactéries se multiplient rapidement en formant des structures appelées microcolonies. Ces structures formées sont caractérisées par la présence d'un ou plusieurs exopolysaccharides qui sont autosecrétés par les bactéries et permettent le renforcement de l'attachement des bactéries entre elles et à la surface colonisée (**Hathroubi, 2016 ; Ayé, 2015 ; Otto, 2013**).

**2.2.4. Formation de matrice extracellulaire et maturation :** Cette étape est corrélée à la production la matrice. En plus des EPS, elle contient des protéines, des acides nucléiques, du peptidoglycane, lipides, phospholipides et autres composants cellulaires. Les EPS sont responsables de la liaison entre les cellules bactérienne et d'autres particules environnantes. Ces composants confèrent aux cellules peuvent la protection contre les stress environnementaux tel que la pénétration des antimicrobiens (**Hilla et al., 2015 ; Singh et al., 2013 ; Vu et al., 2009**).

## Partie I. Synthèse bibliographique

Pendant la phase de maturation, les bactéries continuent de sécréter l'exopolysaccharides ainsi que les autres composants de la matrice extracellulaire jusqu'à l'établissement d'une architecture complexe, stratifiée et hétérogène typique d'un biofilm mature (**Stewart et franklin, 2008**).

Un biofilm mature (figure 9) est caractérisé par la formation d'un film hétérogène tridimensionnel comportant des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation permettant d'acheminer l'oxygène et les nutriments dans les régions enfouies du biofilm et d'évacuer les déchets (**Hathroubi, 2016**).



**Figure 9:** Observation par microscopie électronique à balayage des biofilms de : (A) : *Bacillus cereus* âgés de 6 jours (**Simoes et al., 2010**) et (B) : *Staphylococcus aureus* âgés de 5 jours (**Dubravka et al., 2010**)

**2.2.5. Détachement et dispersion :** La dernière étape est la phase de détachement qui permet aux bactéries d'adhérer à une nouvelle surface et former un nouveau biofilm ou retourner à l'état planctonique. Ce détachement est sous influence de plusieurs facteurs incluant la densité cellulaire, le manque de nutriment et la présence de force de cisaillement ou d'enzymes dégradant la matrice polymériques (**Kalpan, 2010**). La dispersion du biofilm est considérée comme cruciale pour la propagation et l'auto-renouvellement de la communauté bactérienne vers de nouveaux sites (**Renner et weibel, 2011 ; Otto, 2013**).

### 2.3. Propriétés de biofilm en industries agroalimentaires :

Dans l'industrie de la transformation des aliments, la formation de biofilms est très préoccupante, car ils sont un réservoir microbien qui peut causer des dommages à l'équipement, la détérioration des aliments et des problèmes de santé publique. Une fois formés, ces biofilms

sont considérés comme la principale source de contamination des aliments (Simões *et al.*, 2010 ; Abdallah *et al.*, 2014). Ils constituent un modèle particulier, puisqu'il se forme dans les milieux riches en nutriment. En outre l'impact des conditions des processus technologiques jouent un rôle important sur les caractéristiques de ces biofilms en particulier dans la sélection de leur microflore constitutives (Malek *et al.*, 2013).

**2.3.1. Biofilms de *Bacillus cereus*** : *Bacillus cereus* peut causer de graves problèmes d'hygiène à travers la production d'une grande variété de toxines et des pertes économiques dues à la détérioration des produits alimentaires et à la dégradation de l'équipement via la formation de biofilms (Petrus *et al.*, 2010). Les biofilms sont plus résistants aux agents antimicrobiens et aux régimes de nettoyage par rapport aux cellules planctoniques, ce qui fait de leur élimination de l'industrie un grand défi (Lee, 2017).

Les biofilms de *B. cereus* peuvent se développer en particulier dans les systèmes de stockage et de tuyauterie (Özdemir et Arslan, 2018 ; Kumari et Sarkar, 2016). Ces germes potentiellement pathogènes peuvent former des spores reconnues pour adhérer fortement aux surfaces solides et par leur capacité de résister à la stérilisation (Sylla, 2011).

Les souches de bacillus, peut être isolé à partir de biofilms dans divers environnements tels que la production de carton ou les hôpitaux (Kolarietal., 2001; Ohsakietal., 2007; Kurokietal., 2009), mais aussi de la nourriture et les industries des boissons (Evansetal., 2004; Gunduz et Tuncel, 2006; Storgardsetal., 2006; Marchandetal., 2012). La présence des biofilms contenant *B.cereus* est une préoccupation majeure pour l'industrie alimentaire (produits frais, volaille, produits laitiers et viande rouge). Ils constituent une source potentielle de contamination croisée récurrente et de contamination post-traitement des produits finis, entraînant parfois une détérioration des aliments ou des maladies d'origine alimentaire (Rajkovicetal., 2008).

La contamination des chaînes de traitement des aliments par les biofilms de *B.cereus* pourrait donc présenter un risque grave pour la santé publique, en particulier pour les aliments soumis à une transformation en masse, tels que les aliments traités avec un minimum de chaleur (Tauveronetal., 2006). La contamination persistante des équipements de l'industrie agroalimentaire par *Bacillus cereus* est due aux spores qui peuvent survivre à la plupart des traitements thermiques et à l'irradiation aux rayons gamma (Kotiranta *et al.*, 2000), et des biofilms, qui se sont avérés hautement résistants aux procédures de nettoyage (Peng *et al.*, 2002). Les spores de *B. cereus* sont ubiquistes et peuvent contaminer les aliments via les matières premières.

## *Partie I. Synthèse bibliographique*

Ce pathogène alimentaire peut ainsi causer de sérieux problèmes tels que le changement de texture et le développement de saveurs indésirables dans l'industrie alimentaire. Les spores adhérentes peuvent déclencher le processus de formation de biofilm, ce qui peut être une source de contamination de produit. Le nombre des spores adhérentes détermine d'ailleurs la durée de conservation du produit (**Ryu et Beuchat, 2005**).

**2.3.2. Biofilms de *Staphylococcus aureus*** : *Staphylococcus aureus* peut former des biofilms sur l'hôte et sur des matériaux comme les surfaces environnementales ou de transformation des aliments y compris celle de la volaille (**Ali et al., 2017 ; Silva et al., 2017 ; Abdallah et al., 2014 ; Vázquez-Sánchez et al., 2012 ; Watkins et al., 2012 ; Simões et al., 2010**). Wang et ses collaborateurs ont isolé des souches de *Staphylococcus aureus* des produits à base de poule avec une capacité de formation de biofilm extrêmement forte (**wang et al., 2017**).

*Staphylococcus aureus* peut produire un biofilm multicouche intégré dans une couche de glycocalyx ou de slime avec une expression protéique hétérogène (**Al Bayati, 2017 ; Bouyahya et al., 2017**).

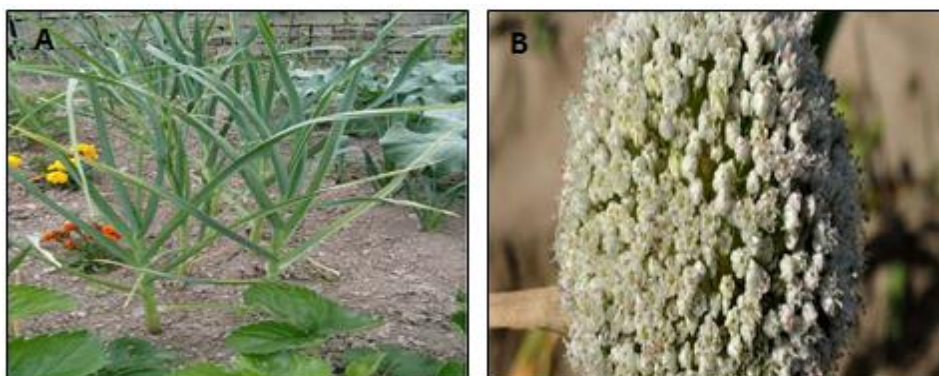
### **Chapitre 3 : Effet de composés organiques sur les biofilms : cas de l'ail « *Allium sativum* »**

Les biofilms installés dans les industries agro-alimentaires représentent un problème pour la santé publique et également entraînent des pertes économiques par des défaillances techniques. Un nombre très important d'études s'intéressent sur les moyens de lutte contre ces biofilms ou de prévention de leur formation (**Giaouris et Simões, 2018 ; Okninet *et al.*, 2015 ; Sanchez-Vizuite *et al.*, 2015 ; Rattawongjirakul et Thongkerd, 2015 ; Daelman *et al.*, 2013 ; Merzougui *et al.*, 2013 ; Lerasle *et al.*, 2012 ; Flemming et Wingender, 2010**).

Les composés naturels peuvent affecter la formation du biofilm dans toutes ses phases et peuvent interagir avec le biofilm mature. Ils sont capables de modifier les propriétés physicochimiques de l'environnement (par exemple, la tension superficielle) ou d'interférer avec les structures des couches d'enveloppe de cellules, qui sont impliquées dans l'adhésion. Les composés naturels sont capables de moduler très efficacement la formation de biofilms au niveau des mécanismes de régulation (**Rezanka *et al.*, 2012**). Parmi ces composés naturels, on peut citer l'ail « *Allium sativum* » qui a été considéré comme une arme contre les agents pathogènes (**Abiy et Berhe, 2016 ; Gupta *et al.*, 2015**).

#### **3.1. Définition et taxonomie de l'ail *Allium sativum* :**

La plante de l'ail est une herbe dressée, robuste et pérenne. La tête d'ail est un bulbe de 60 cm de hauteur, complexe et formé de nombreuses petites bulbilles appelées gousses d'ail ou caïeux. L'ensemble est enfermé dans une peau semblable à du papier. Les feuilles sont longues, plates et lisses (**Figure 10A**) à forme cylindrique, creuse, linéaire et solide à sommet aigu (apex acuminé). Une inflorescence sphérique avec des fleurs colorées blanches (**Figure 10B**) ou rose-violacées sur des pédoncules grêles (**Morrison, 1994**).



**Figure 10:** Photo de la plante de l'ail « *Allium sativum* » (A) : Tige et feuille, (B) : Fleur (Colin, 2016)

L'ail appartient à la famille botanique des liliaceae (**Tableau 2**) dont son nom scientifique est *Allium sativum* (kong *et al.*, 2018 ; Bandna, 2013). Il est considéré comme l'un des vingt légumes les plus importants, cultivé depuis plus de 10000 ans, avec diverses utilisations dans le monde entier comme nourriture, aromatisant et en médecine (Martinet *et al.*, 2016). *Allium sativum* est une espèce d'une plante monocotylédonique (**figure 11 et 12**), potagère, vivace dont ses bulbes ont une odeur et un goût fort (Gerges Geaga, 2015).

**Tableau 1:** Classification de l'ail (Stavelikova, 2008)

Classe	Liliopsida
Sous-classe	Liliidae
Super ordre	Liliiana
Ordre	Amaryllidales
Famille	Alliaceae
Sous-famille	Allioideae
Genre	Allium
Espèce	<i>Allium Sativum</i>



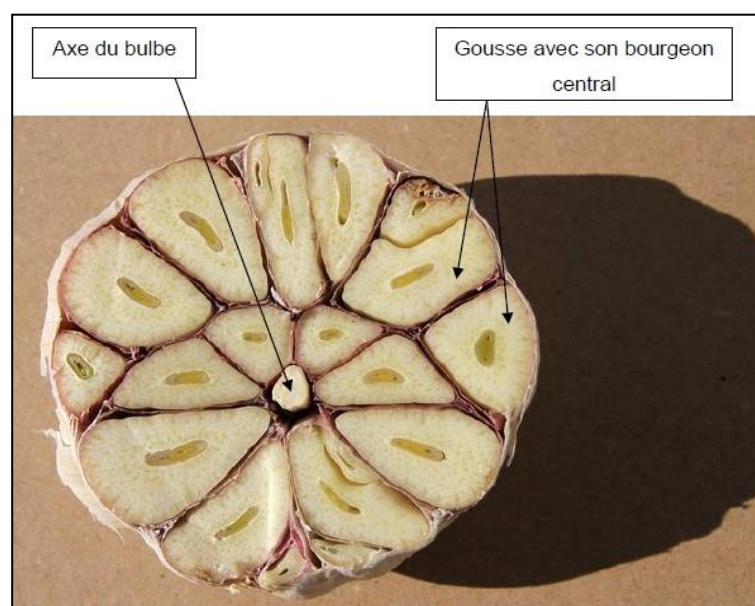


Figure 11: Coupe d'un bulbe d'ail cultivée (Dupont et Guignard, 2012)



Figure 12: Bulbe d'*Allium sativum* et ses caïeux (Gerbeaud, 2008)

### 3.2. Les principaux constituants phytochimiques de l'ail :

La composition chimique de l'ail a été rapportée dans le passé (dont ses composés sont indiqués dans le tableau 3). La plupart des espèces étudiées contenaient en plus de l'eau, des organosulfures, des acides gras, (Kharazi, 2005 ; Hu *et al.*, 2002 ; Kamanna et Chandrasekhara, 1980), des glucides (Chandrashekar *et al.*, 2011 ; Baumgartner *et al.*, 2000; Ernst *et al.*, 1998) et des composés de sélénium (Arnault et Auger, 2006).

**Tableau 2:** composition de l'ail frais (Lagunas, 2007) :

<b>Composés</b>	<b>Mg/g m.h</b>
<b>Eau</b>	620-680
<b>Carbuhdrates</b>	260-300
<b>Fructosanes</b>	220-250
<b>Fibre</b>	15
<b>Protéines</b>	15-21
<b>Acides aminés</b>	10-15
<b>Composants organosulfurés</b>	11-35
<b>B-sitostérol</b>	0.015
<b>Adénosine</b>	0.1
<b>Saponine</b>	0.4-1.1
<b>Vitamines</b>	0.15
<b>Minéraux</b>	7
<b>Sulfure</b>	2.3-3.7
<b>Azote</b>	6-13
<b>Lipides</b>	1-2
<b>Acide phénoliques</b>	0.8
m.h / matière humide	

**3.2.1. Les composés soufrés :** L'importance de l'ail repose sur ces composés car ils sont responsables de la saveur caractéristique et des effets bénéfiques qu'ils apportent pour la santé (Santhosha *et al.*, 2013). Certains de ces composés soufrés sont solubles dans l'eau, tandis que les autres sont liposolubles (Minker, 2012). Parmi ces composés : les thiosulfonates et les ajoènes, Les sulfides. Les thiosulfonates contiennent l'allicine qui est nettement majoritaire car elle représente 60 à 80% du total des thiosulfonates de l'ail (Colin, 2016 ; Suleria *et al.*, 2015 ; Santhosha *et al.*, 2013).

**3.2.2. Les composés non soufrés :** La bulbe d'ail contient en moyenne 60 à 65% d'eau, 6% de protéines et 3% de fibres (Colin, 2016 ; Suleria *et al.*, 2015). Il contient aussi des glucides, des flavonoïdes, des Saponines, l'Adénosine, des minéraux et une proportion très faible de lipides. L'ail est une source de nombreuses vitamines (les vitamines du groupe B, vitamine C, de vitamine E, et de vitamine A) (Colin, 2016 ; Suleria *et al.*, 2015 ; Minker, 2012). La consommation d'ail permet également un apport intéressant de tryptophane, un autre Acide aminé essentiel. Le tryptophane est le précurseur de la sérotonine, qui permet de synthétiser la mélatonine, l'hormone du sommeil (Minker, 2012).

### 3.3. Utilisations de l'ail :

L'ail est largement utilisé dans la cuisine comme agent aromatisant (Martins *et al.*, 2016). Le bulbe a une saveur épicée et piquante caractéristique qui adoucit visiblement lors de la cuisson. L'ail est un composant fondamental de nombreux plats d'Asie de l'Est, du Sud et du Sud-Est, du Moyen-Orient, de l'Afrique du Nord et du Sud de l'Europe. De plus, l'ail est utilisé dans différentes recettes d'Amérique du Sud et d'Amérique centrale (Fратиanni *et al.*, 2016). Il est utilisé aussi dans la médecine pour lutter contre plusieurs infections telles que l'asthme, la diarrhée, la grippe, les maux de tête (Bandna, 2013).

Les constituants de l'ail ont également fait l'objet des études pour traiter les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, la pression artérielle, l'athérosclérose et l'hyperlipidémie (Mikaili *et al.*, 2013). L'allicine présente en extrait aqueux d'ail réduit la concentration de cholestérol dans le sang humain. L'extrait d'ail a une activité antimicrobienne contre de nombreux genres bactériens. L'activité antibactérienne des extraits d'*Allium sativum* a été évaluée contre *Bacillus cereus* (Bandna, 2013), des virus et des champignons (Papuet *et al.*, 2014). Il a été démontré que l'ail avait des effets similaires à ceux de la pénicilline et des antibiotiques modernes, notamment le chloramphénicol. Même le sang des consommateurs d'ail peut tuer les

bactéries et il a également été rapporté que la vapeur de l'ail fraîchement coupé pouvait tuer les bactéries à une distance de 20 cm (Abiy et Berhe, 2016 ; Gupta et al., 2015).

### 3.4. L'effet d'*Allium sativum* sur les biofilms de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*:

L'ail inhibe le développement des biofilms par les agents pathogènes à Gram positif et à Gram négatif (Nidadavolu et al., 2012). Il peut être utilisé pour le développement d'antibiotiques à large spectre, car il possède une activité antibactérienne large (Bandan, 2013). Il peut aussi être utilisée comme inhibiteur potentiel des pathogènes alimentaires comme *Bacillus cereus* et prévenir l'empoisonnement alimentaire. Il a également été révélé que l'ail inhibe efficacement la croissance de *S. aureus* (Amor et al., 2012).

*A. Sativum* présente une activité antibactérienne excellente contre *Bacillus cereus*, il peut significativement réduire la formation de biofilm de *Bacillus cereus* (Liaqat et al., 2016). Il peut aussi entraîner une réduction très significative du biofilm de Staphylocoque doré (réduction moyenne d'environ 60%) (El-Gayar et al., 2016). l'ail a un effet antibiofilm durable car ses composants actifs restent stables pendant au moins 3 mois (Bandna, 2013 ; Amor et al., 2012).

L'effet antimicrobien de l'ail contre *Bacillus cereus* est principalement attribué aux composés organosulfurés tels que l'allicine, l'ajoène, sulfures diallyle et l'acide diallyldisulphide (Rai et al., 2015 ; Chekki et al., 2014). L'Allicine est le thiosulfate le plus prédominant en ail et qui est responsable de l'odeur caractéristique et l'activité antimicrobienne puissante contre un grand nombre de micro-organismes, notamment *Staphylococcus aureus* et d'autres bactéries résistantes (Kumar et al., 2015).

Des études *in vitro* ont montré que l'allicine pouvait inhiber l'adhésion bactérienne précoce de *Staphylococcus aureus*, réduire la sécrétion de substance polysaccharidique extracellulaire et réduire la production de facteur de virulence contrôlée par le quorum sensing (Lim, 2015). Les thiosulfates inhibent les micro-organismes à cause de leur groupe -S(O)-S- qui réagit généralement avec le groupe SH des protéines cellulaires pour générer des disulfures mixtes. L'activité antimicrobienne des thiosulfates peut être annulée par des composés sulfhydryles tels que la cystéine. Les produits naturels dérivés d'ail inhibent les systèmes du QS. Des études ont montré que les principaux composés des extraits d'ail responsables de l'inhibition de QS sont les sulfures, les polysulfures, les dithiines vinyles et l'ajoène (inhibe la croissance des bactéries à Gram positif, telles que *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*) (Lim, 2015 ; Rabin et al., 2015).

## *Partie I. Synthèse bibliographique*

Il y a des phénols totaux et des flavonoïdes dans la composition de l'ail. L'activité antioxydant est directement liée au contenu des composés phénoliques. Ces composés ont montrés une activité antibactérienne élevée contre les bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif mais elle est plus importante contre les bactéries à Gram-positif (**Chekki *et al.*, 2014**). Les flavonoïdes possèdent une activité antifongique, antivirale et antibactérienne. En particulier, la quercétine montre une activité antibactérienne vis-à-vis de *Bacillus cereus* et *S. aureus*. En ce qui concerne le mécanisme d'action, il semble que l'activité de la quercétine et des flavonoïdes pourrait être attribuée à l'inhibition de l'ADN gyrase (**Lanzotti *et al.*, 20**



*Partie II : Matériel et  
méthodes*

## **Chapitre 1 : Évolution de la capacité de la formation de biofilm**

### **1.1. Origine des souches :**

Un total de 31 souches a été étudié dans ce travail. Les souches appartenant au genre *Bacillus cereus*, avec un total de 20, ont été isolées de la viande de poulet cru commercialisée dans la région de Tlemcen. Alors que les souches restantes sont des *Staphylococcus aureus*, isolées du Döner Kebab prêt à manger commercialisée dans la même région. La présente étude a été menée au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement.

### **1.2. Revivification des souches :**

Une fraction issue du stock des cultures sur glycérol de chaque souche à tester est transférée dans 7ml du bouillon BHI (Liofilchem) et incubée à 37°C pendant 24 h. Chaque culture est homogénéisée au vortex. Un ensemencement en stries est réalisé sur la gélose BHI pour les souches de *Bacillus cereus* et sur la gélose Baird Parker pour les souches de *Staphylococcus aureus*. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

### **1.3. Observation microscopique :**

Une coloration simple au bleu de méthylène est réalisée pour vérifier de la pureté des souches. Des frottis sont préparés et colorer puis observés au microscopique optique au grossissement 100.

### **1.4. Conservation des souches :**

La conservation des souches est effectuée dans des tubes à essais contenant la gélose nutritive inclinée. Après l'ensemencement par des stries une incubation à 37°C est réalisée. Les tubes sont maintenus au réfrigérateur pendant 20 jours.

## **1.5. Évaluation de la capacité de formation de biofilm :**

### **1.5.1. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC) :**

**1.5.1.1. Principe de la technique :** La technique des microplaques de titration au cristal violet, mise au point par **O'Toole et Kolter, (1998)** est une technique très utilisée pour la formation de biofilms (**Pierce et al., 2008 ; Niu et Gilbert, 2004**). C'est une technique colorimétrique basée sur le principe que le cristal violet se lie de manière proportionnelle à la biomasse du biofilm (**Niu et Gilbert, 2004**). En effet cette technique de coloration permet de visualiser les cellules qui s'attachent à la surface et se colorent en pourpre avec le cristal violet, alors que les surfaces abiotiques ne sont pas colorées (**Pratt et Kolter, 1998**).

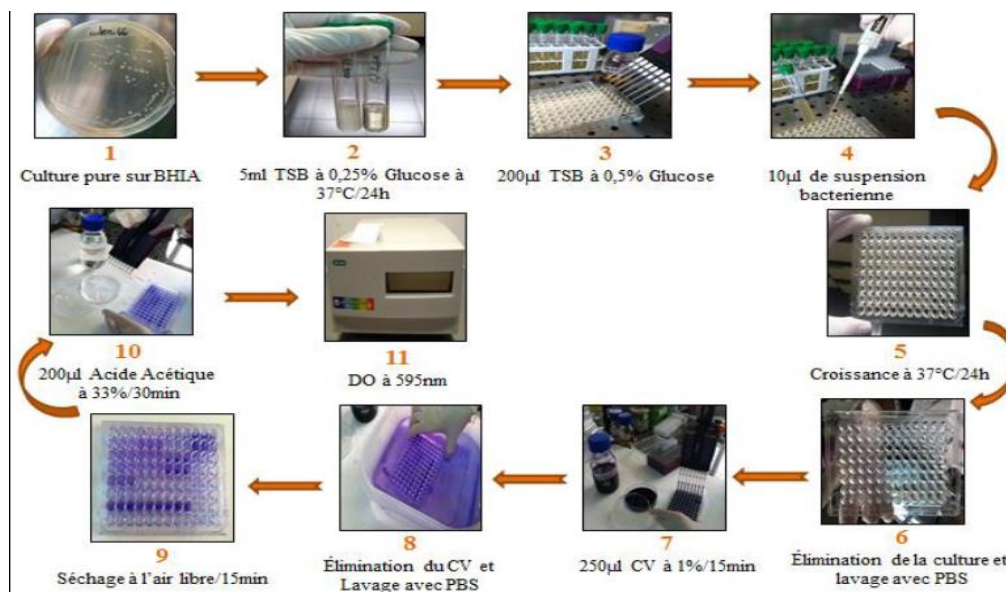
**1.5.1.2. Préparation de la suspension sporale :** La suspension sporale des *Bacillus cereus* est réalisée selon le protocole décrit par **Mazaset al., (1995)**. Des prés-cultures des souches sont préparées dans 5 ml de BHIB à partir des géloses inclinées et incubées à 30°C pendant 24h. Une gélose fortifiée est préparée en ajoutant à la gélose nutritive 50ml/l MnSO<sub>4</sub> et 60mg/l CaCl<sub>2</sub>. Un volume de 0,3 ml des pré-cultures estensemencé sur la gélose fortifiée. L'incubation est faite à 30°C pendant 10 jours. Une fois la période achevée, un volume de 3 ml d'eau distillée stérile est versé dans chaque boîte pour racler le tapis formé qui est par la suite transféré dans tubes coniques. Une centrifugation à 6500 tours/minute pendant 15 min est réalisée pour récupérer les spores. Le surnageant est jeté et les spores sont lavées avec l'eau distillée stérile. Une deuxième centrifugation à 6500 tours par minute se fait pendant 15 min, le surnageant est jeté et le culot est conservé dans 3 ml d'eau distillée stérile additionnée d'éthanol (50/50 v/ v) au réfrigérateur.

**1.5.1.3. Préparation de la suspension bactérienne :** Une quantité de culture issue du stock de culture sur glycérol de chaque souche de *Staphylococcus aureus* à tester est transférée dans un bouillon BHI et incubée à 37°C pendant une nuit. Chaque souche est étalée sur une boîte de Pétri contenant une gélose BHIA, incubée par la suite à 37°C/48h.



**1.5.1.4. Protocole :** Un volume de 5ml de BHIB à 0.25 % de glucose estensemencé par les souches à tester. Les souches de *Staphylococcus aureus* sont incubées à 37°C pendant une nuit puis ajustée à une concentration finale de  $\approx 10^8$  Ufc / ml, alors que celles de *Bacillus cereus* sont passées directement la mesure de la densité optique. Chaque puit est rempli par 200  $\mu$ l de BHIB à 0.5 % de glucose et 10  $\mu$ l culture bactérienne. Chaque souche est inoculée dans 2 puits et les puits du contrôle ne contiennent que le BHIB à 0.5% de glucose. Pour chaque souche la technique est réalisée en duplicate. Les microplaques de titration sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 h. Les cultures sont éliminées par la suite et les puits sont lavés 2 fois par PBS pour éliminer les cellules non adhérees. Les plaques sont exposées à l'air libre pendant 15 min pour le séchage des puits. Chaque puits est rempli par 250  $\mu$ l de cristal violet à 1% et laisser agir 15 min à température ambiante. Ensuite, les puits sont rincés plusieurs fois avec PBS et sécher à l'air libre pendant 15 min. Un volume de 200 $\mu$ l d'acide acétique à 33% est versé dans chaque puit et laissé agir 30 min. La densité optique à 595 nm est mesurée (biotck). Les souches sont classées comme suit (Stepanovic *et al.*, 2000) :

- $DO \leq DO_{\text{Témoins}}$  : Non formatrice de biofilm ;
- $DO_{\text{Témoins}} < DO \leq 2 \times DO_{\text{Témoins}}$  : Faiblement formatrice ;
- $2 \times DO_{\text{Témoins}} < DO \leq 4 \times DO_{\text{Témoins}}$  : Capacité modérée ;
- $DO > 4 \times DO_{\text{Témoins}}$  : Fortement formatrice du biofilm.



**Figure 13:** Protocole de formation de biofilm en microplaque à 96 puits en PVC associé à une coloration au cristal violet (au lieu de TSB on a utilisé le BHIB) (CHERIF ANTAR Asma., 2015)

### **1.5.2. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo :**

**1.5.2.1. Principe de la technique :** Selon **Freeman *et al.*, (1989)**, la gélose Rouge Congo est un milieu très convenable pour la détection des souches productrices de slime (**Nagaveni *et al.*, 2010**). Sur ce milieu les souches exprimant le Polysaccharide Intercellular Adhesion (PIA) donnent des colonies noires contre des colonies de couleur rouge pour les souches PIA négatives. Les souches à phénotype variable donnent des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir (**Rewatkar et Wadher, 2013 ; Mathur *et al.*, 2006**).

**1.5.2.2. Préparation de la suspension sporale et la suspension bactérienne :** Comme décrit précédemment.

**1.5.2.3. Protocole :** Selon **Freeman *et al.*, (1989)**, le milieu gélosé au Rouge Congo est préparé avec 37 g/l de bouillon BHI (Merck, Germany), 50 g/l de saccharose, 10 g/l de l'agar bactériologique, et 0,8g/l de Rouge Congo (Fluka, India). Les boîtes contenant le milieu sont inoculées par les souches à tester à partir du milieu solide BHI et incubé à 37 °C pendant 24 à 48 h. Les souches productrices de slime donneront des colonies noires à surfaces rugueuse alors qu'un résultat négatif indiquera des colonies rouges à surface lisse. Les souches de phénotype variable donneront des colonies à centre noir et contour rouge ou à centre rouge et contour noir.

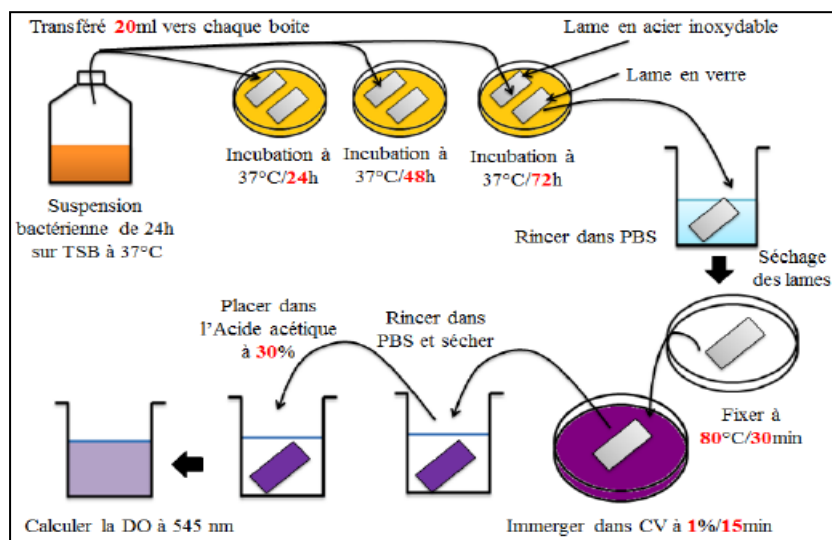
### **1.5.3. Évaluation de la capacité à former les biofilms sur les surfaces en acier inoxydable :**

**1.5.3.1. Préparation des surfaces :** Des surfaces en acier inoxydable de type AISI 304 et de taille 2.5x1 cm ont été utilisées. Ces surfaces solides sont utilisées pour examiner *in vitro* la capacité de nos souches à former le biofilm. Les lames sont nettoyées et stérilisées selon la méthode décrite par Rossoni et Gaylarde (2000). Elles sont rincées par l'acétone pur, puis lavées par immersion dans NaOH à 1% (p/v) à PH = 13.2 pendant 1h. Un rinçage à l'eau distillée stérile et un séchage sont appliqués. Ensuite les lames sont lavées avec l'alcool à 70% (v/v), rincées avec EDS et séchées pendant 2 heures à 60°C. Placées dans une boîte de pétri, les lames sont autoclavées à 121°C pendant 20 minute. Les boîtes du contrôle contiennent les lames immergées dans le milieu stérile.

1.5.3.2. Préparation de la suspension sporale et la suspension bacterienne : comme décrit précédemment.

1.5.3.3. Protocole : Le protocole appliqué est celui décrit par **Paytubi et al., (2014)** avec quelques modifications. Les lames sont placées dans des boites de pétri stériles. Un volume de 20 ml de la culture bacterienne est coulé dans les boites. L'incubation est faite à 37°C pendant 24, 48 et 72 h. Après chaque période d'incubation les lames sont rincées 3 fois avec PBS pendant 10 secondes pour éliminer les cellules non adhérees. Les biofilms ainsi formés sont fixés par incubation à 80°C pendant 30 minutes. Les lames sont immergées dans le CV à 1 % (p/v) pendant 15 min pour une évaluation quantitative. Ensuite elles sont rincées avec l'eau et séchées à l'air. Les lames sont placées dans 5 ml de l'acide acétique à 30% une agitation vigoureusement pendant 30 minutes. La densité optique est mesurée à 545 nm comme étape finale. Les souches sont classées comme suit (**Stepanovic et al., 2000**) :

- $DO \leq DO_{\text{Témoins}}$  : Non formatrice de biofilm ;
- $DO_{\text{Témoins}} < DO \leq 2 \times DO_{\text{Témoins}}$  : Faiblement formatrice ;
- $2 \times DO_{\text{Témoins}} < DO \leq 4 \times DO_{\text{Témoins}}$  : Capacité modérée ;
- $DO > 4 \times DO_{\text{Témoins}}$  : Fortement formatrice du biofilm.

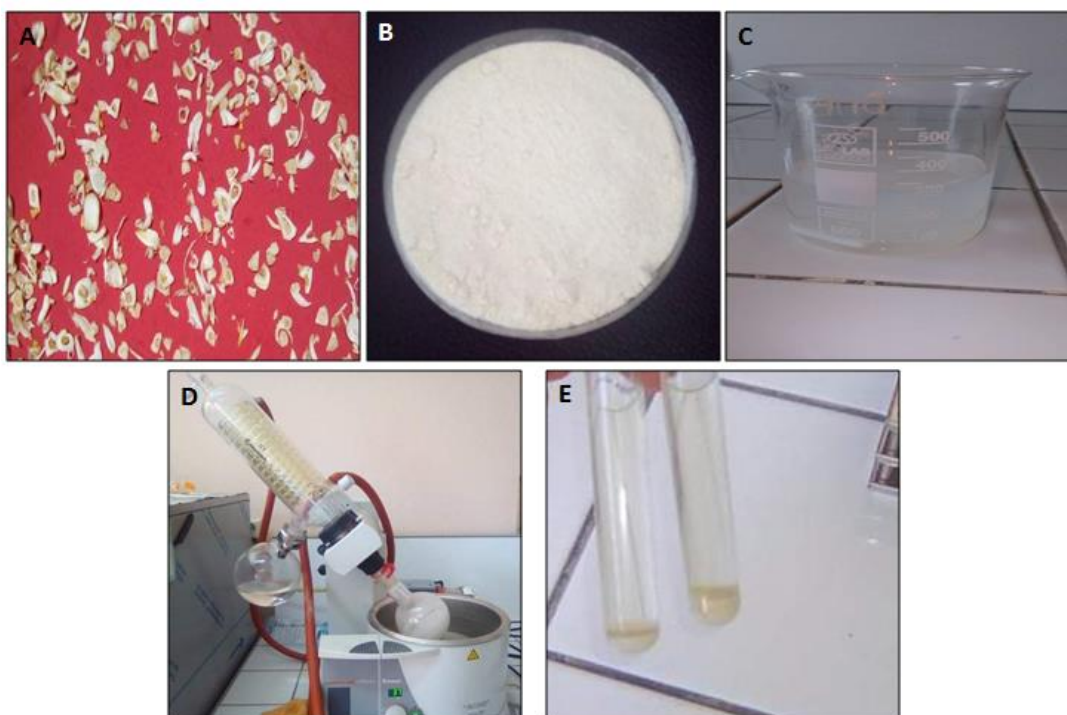


**Figure 14 :** Formation de biofilm sur des lames en verre et en acier inoxydable durant 24h, 48h et 72h d'incubation suivie par une révélation au Cristal Violet (**CHERIF ANTAR Asma., 2015**)

## **Chapitre 2 : Évolution de l'effet l'ail « *Allium sativum* » sur des biofilms à *Staphylococcus aureus* :**

### **2.1. Préparation de l'extrait de l'ail :**

L'ail utilisé dans la présente étude est acheté du marché local de Tlemcen. Les bulbes d'ail ont été pelés, rincés à l'eau courante et coupés en petits morceaux, puis séchés au soleil pendant sept jours. Ensuite, les bulbes d'ail séchés ont été broyés en poudre fine à l'aide d'un mélangeur électrique. Le protocole appliqué est élaboré par **Gull *et al.*, (2012)** et reporté par **AlBayati en (2017)** avec quelques modifications, indiqué dans la figure 14. On a fait tremper 1 g de poudre d'ail dans 300 ml d'éthanol pur. Le bécher contenant le mélange est incubé à une température ambiante pendant 5 jours sous agitation. L'extrait brut est filtré par la suite, puis concentré dans un évaporateur rotatif. L'extrait brut séché est dissous dans le DMSO à une concentration finale de 300mg/ml.



**Figure 14:** Préparation de l'extrait de l'ail, (A) : fines tranches de l'ail séchées pendant 7 jours ; (B) poudre fine de l'ail obtenue après broyage ; (C) : mélange de l'ail et de l'éthanol ; (D) : concentration de l'extrait brut par évaporateur rotatif et (E) : extrait pure obtenu

## 2.2. Développement du biofilm mono espèce à *Staphylococcus aureus* en système Batch :

**2.2.1. Préparation des systèmes :** Le modèle expérimental utilisé dans cette étude pour la formation des biofilm est inspiré des systèmes utilisés par **Gram *et al.*,(2007)** et par **Bagge *etal.*,(2001)**. Le système est constitué de deux cercles en acier inoxydable (AISI, 304), dans lesquels 12 coupons de la même matière sont tenus en position verticale et radiale (voir figure). Les lames font 2.5 cm de longueur et 1 cm de largeur et ont une épaisseur de 1mm. L'ensemble du système est nettoyé comme décrit précédemment et placé dans un bécher stérile et couvert par du papier aluminium avant sont autoclavage (figure 15).



**Figure 15:** Les systèmes utilisés pour la formation des biofilms

**2.2.2. Préparation de la suspension bactérienne :** Comme décrit précédemment.

**2.2.3. Protocole :** Un volume de 200 ml du bouillon BHI et 50 ml la culture bactérienne de *Staphylococcus aureus* sont versés dans le bécher. Incubation du système est faite à 37°C pendant 10 jours. Sans renouvellement et sous agitation de 100 rpm.

**2.2.4. Traitement des biofilms :** Les tubes sont remplis par l'extrait de l'ail à trois concentrations différentes : 1, 2 et 3%. Les lames sont retirées aseptiquement des systèmes et rincées avec le PBS. Chaque lame est plongée dans le tube approprié et laissée agir pendant 5, 10 et 15 minutes. Les lames sont rincées avec PBS après le temps de traitement. Les lames du contrôle sont soumises directement au dénombrement.

**2.2.5. Dénombrement des bactéries attachées sur les lames après les traitements :** Les lames sont transférées dans les tubes contenant 10 ml de solution saline. Les tubes sont ensuite placés dans le bain à ultra son 100 MZ pendant 2,5 minutes. Une homogénéisation au vortex pendant 30 secondes est réalisée, l'opération est répétée une autre fois. Une série de dilution décimale allant jusqu'à 10<sup>-8</sup>. Un volume de 100 µl est ensemencé sur PCA. Chaque souche est testée en duplicate. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation le dénombrement est réalisé et les résultats sont exprimés en ufc/cm<sup>2</sup> selon la formule suivante :

$$N \text{ (ufc/cm}^2\text{)} = [nv/d]/S$$

- **n** : nombre de colonie compté sur la boîte retenue ;
- **d** : taux de dilution ;
- **v** : volume total de la dilution qui a servi au dénombrement
- **S** : surface de la lame délimitée à 5 cm<sup>2</sup>.

## *Partie II. Matériel et méthodes*

Pour les lames témoin, le nombre est noté  $N_0$ , tandis que pour les lames traitées, le nombre est noté  $N_F$ . La réduction logarithmique des cellules de biofilm récupérées à partir de coupons de l'acier inoxydable a été déterminée de la manière suivante :

$$\text{Réduction Log} = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_F$$

- $N_0$  : nombre de cellules témoins non traitées ;
- $N_F$  : nombre de cellules récupérées après traitement.



*Partie III : Résultats  
et discussion*



## **Chapitre 1 : Évolution de la capacité de la formation de biofilm**

Dans la présente étude, la formation de biofilm des souches testées est basée sur trois techniques couramment décrites dans ce contexte à savoir l'évaluation de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC), la formation de biofilm sur les surfaces solides en acier inoxydable et la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo. Les différentes expériences ont été menées sur 20 souches de *Bacillus cereus* et 11 souches de *Staphylococcus aureus*.

### **1.1. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par les microplaques de titration à 96 puits en Polychlorure de Vinyle (PVC) :**

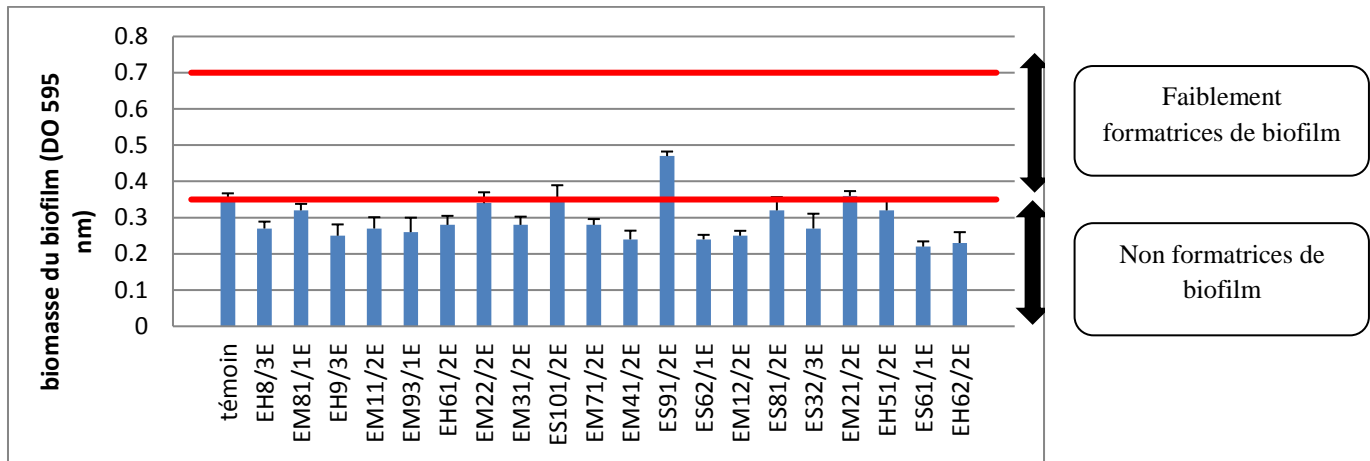
Cette technique de quantification est parmi les méthodes indirectes d'estimation de la production de biofilm sur différents types de substrats (Djordjevic *et al.*, 2002). La coloration absorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé, et sa solubilisation permet une quantification de celui-ci (Musk *et al.*, 2005).

Après 24 heures d'incubation à 37 °C sur les microplaques de titration, la formation de biofilm a été exprimée en absorbances mesurées à 595 nm du colorant incorporé par les cellules formant des biofilms. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence la capacité de toutes les souches de *Bacillus cereus* et de *Staphylococcus aureus* à former des biofilms sur surface hydrophobe (PVC) après culture en BHIB.

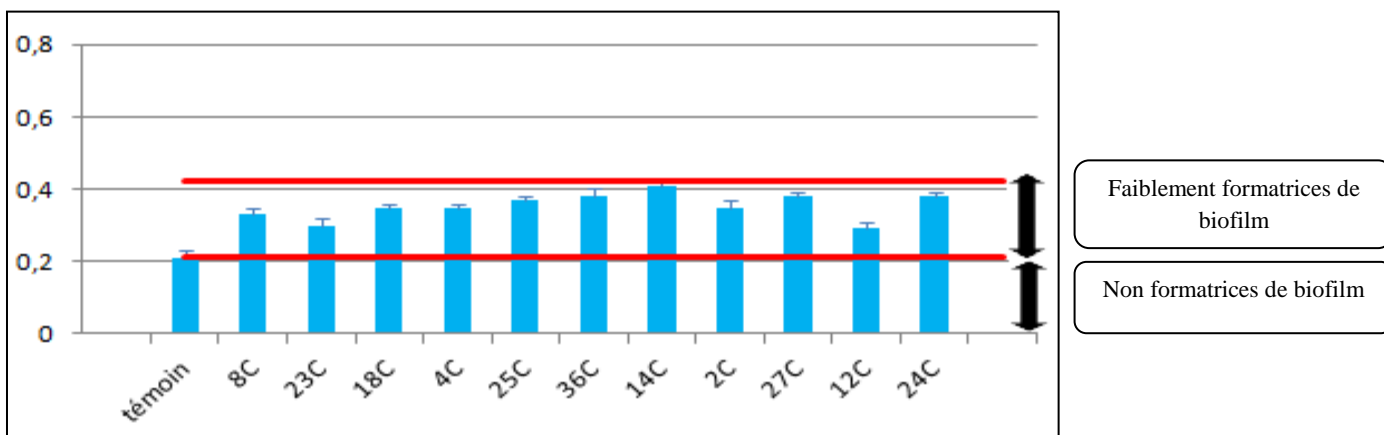
Les résultats de la capacité de formation de biofilm sont présentés sur les figures 16 et 17 pour les souches de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, respectivement. D'après les valeurs d'absorbance sur un total de 20 souches de *B.cereus*, 18 souches sont non formatrices de biofilm avec une DO inférieure à 0,35 tandis que deux souches (ES91/2<sup>E</sup> et ES101/2<sup>E</sup>) sont faiblement formatrices de biofilm avec une DO comprise entre 0,35 et 0,7. L'isolat ES91/2E présente la capacité de formation de biofilm la plus élevée (DO=0.46).

D'après les résultats obtenus pour les souches de *Staphylococcus aureus* à 595 nm, Une seule souche sur un total de 11 présente la capacité de formation de biofilm la plus élevée (14C avec une DO<sub>595nm</sub>=0,41), les 10 souches qui restent avaient une DO comprise entre 0,29 et 0,4. Donc toutes les souches de *Staphylococcus aureus* sont faiblement formatrices de biofilm comme indiqué dans le tableau 4.

### Partie III. Résultats et discussion



**Figure 16:** Formation de biofilms par les souches de *B. cereus* sur microplaque de titration en PVC.



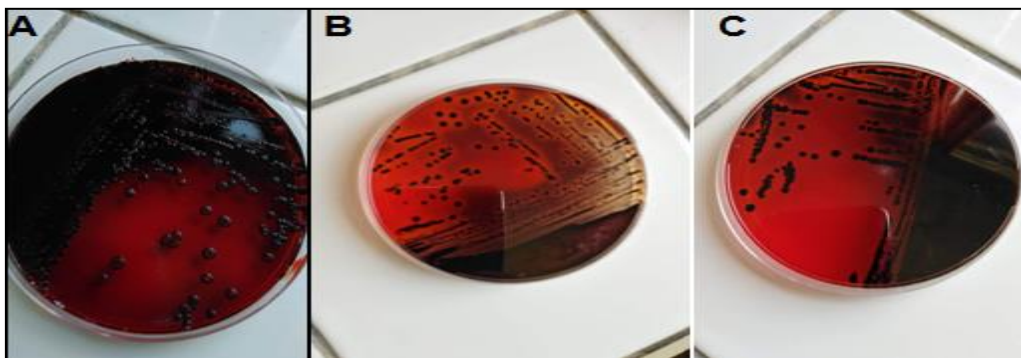
**Figure 17:** la formation de biofilms par les souches de *Staphylococcus aureus* sur microplaque de titration en PVC.

**Tableau 3:** Capacité de formation de biofilms par les souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* sur microplaque de titration en PVC :

Espèces	Négatif (-)	Faible (+)	Modéré (++)	Forte (+++)	Total
<i>Bacillus cereus</i>	18	2	0	0	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	11	0	0	11
<b>Total</b>	18	13	0	0	31

**1.2. Caractérisation phénotypique de la formation de biofilm par la production de slime sur la gélose au Rouge Congo :**

Après 24 heures d'incubation, IL FAUT DONNER UN % souches ont développé la production de slime, cette production est remarquée respectivement seulement pour trois souches de *Staphylococcus aureus* 8C, 25C et 12C à l'opposé des autres souches exprimant un phénotype négatif. Toutes les 20 souches de *Bacillus cereus* et 8 souches de *Staphylococcus aureus* (comme l'indique le tableau 5). Les souches productrices de slime donnent des colonies de couleur noire (figure 18) par contre les non productrices donnent des colonies de couleur rouge (figure 19 et 20).



**Figure 18:** Aspects des colonies des souches de *S.aureus*, (A) : 8C, (B) : 25C et (C) : 12C, indiquant la production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo



**Figure 19:** Aspects des colonies des souches *B.cereus* indiquant l'absence de production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo



**Figure 20:** Aspects des colonies des souches *staphylococcus aureus* indiquant l'absence de production de "slime" sur la gélose au Rouge Congo

**Tableau 4:** Capacité de production de "Slime" sur la gélose au Rouge Congo par les souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* :

Espèces	productrice	Non productrice	Total
<i>Bacillus cereus</i>	0	20	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	8	11
<b>Total</b>	3	28	31

### 1.3. Évaluation de la capacité à former des biofilms sur les surfaces en acier inoxydable :

Une quantification de la biomasse du biofilm formé sur les surfaces en acier inoxydable est réalisée par un protocole de coloration au Cristal Violet à 1%. La solubilisation du CV est faite par l'acide acétique à 30%. Les résultats de la capacité de formation des biofilms obtenus sont montrés dans les figures 20 et 21 pour les souches de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* sur l'acier inoxydable pour les trois durées d'incubation 24, 48 et 72h, respectivement. La coloration de la biomasse formée permet une quantification plus précise du biofilm que l'observation visuelle. La formation de biofilm par toutes les souches testées (31), exprimée par la valeur de la  $DO_{595nm}$  mesurée, est comparée avec celle obtenue par le contrôle négatif (bouillon non inoculé). Les souches sont classées en quatre catégories : non formatrices de biofilm, avec une faible capacité à former le biofilm, avec une capacité modérée et avec une forte capacité à produire le biofilm selon les valeurs indiquées dans le tableau 6.

**Tableau 5:** Classement des souches testées pour leur capacité à former le biofilm selon le temps d'incubation :

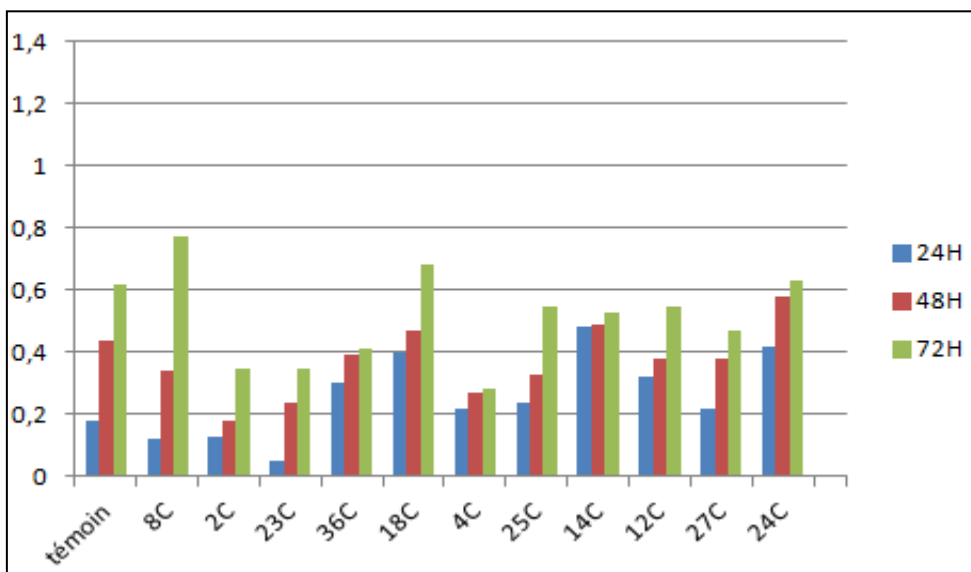
Classement	Durée d'incubation		
	24h	48h	72h
<b>Non formatrice</b>	$DO < 0,18$	$DO < 0,44$	$DO < 0,62$
<b>Faible capacité</b>	$0,18 < DO < 0,36$	$0,44 < DO < 0,88$	$0,62 < DO < 1,24$
<b>Capacité modérée</b>	$0,36 < DO < 0,72$	$0,88 < DO < 1,76$	$1,24 < DO < 2,48$
<b>Forte capacité</b>	$DO > 0,72$	$DO > 1,76$	$DO > 2,48$

### Partie III. Résultats et discussion

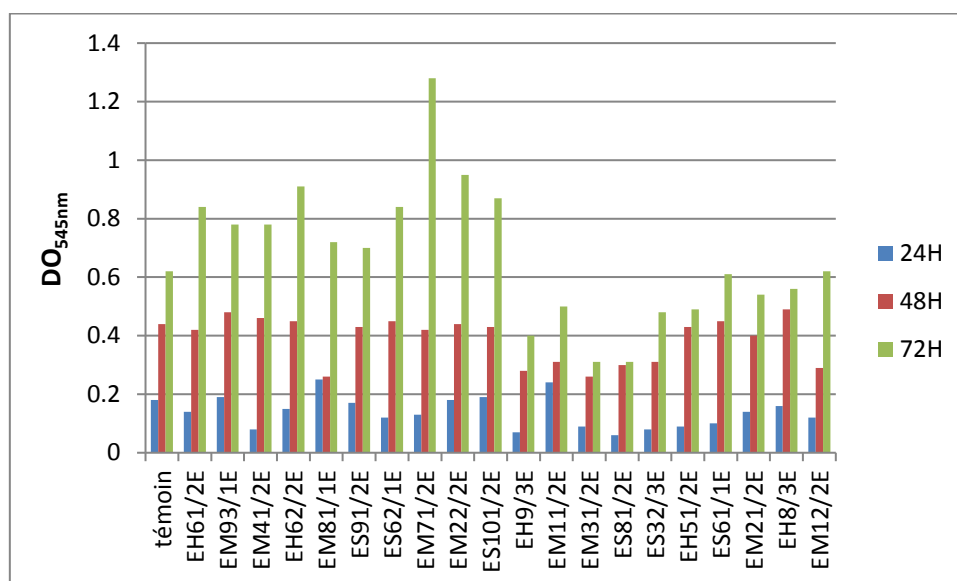
La comparaison des valeurs de la biomasse obtenue après 24, 48 et 72 h nous montre une différence remarquable qui ne peut pas être prévue par l'inspection visuelle.

D'après les valeurs d'absorbance des souches de *Staphylococcus aureus* à 595 nm, trois souches (8c, 23c, 2c) sont non formatrice de biofilm après 24, 48 et 72h. La mesure de la DO a montré que 6 souches sont non formatrices de biofilm après 72h d'incubation parmi ces dernières, 5 souches sont faiblement formatrices et deux ont une capacité modérée à former le biofilm après 24h d'incubation. Les souches 18c et 14c sont modérément formatrices de biofilms après 24h d'incubation et faiblement formatrice de biofilm après 48h et 72h.

Nos résultats montrent qu'il y a 4 souches de *Bacillus cereus* qui sont non formatrices pendant les trois durées d'incubation et 6 souches sont non formatrices après 24h d'incubation et faiblement formatrice. Après 48h et 72h d'incubation, 4 souches sont non formatrices pour 24h et 72h pourtant elles ont une capacité faible de formation de biofilm. Après 48h d'incubation, 4 souches sont faiblement formatrices après 72h d'incubation, une souche a formée un biofilm avec une capacité modérée après 72h d'incubation et la dernière souche est classé comme non formatrice après 24, 48 et 72h d'incubation.



**Figure 20:**Quantification de la formation de biofilm (DO545nm) sur des surfaces d'acier inoxydable après une croissance statique des souches de *Staphylococcus aureus* à 37°C dans le milieu BHIB après 24h, 48 h et 72 h d'incubation.



**Figure 21:** Quantification de la formation de biofilm (DO545nm) sur des surfaces d'acier inoxydable après une croissance statique des souches de *Bacillus cereus* à 37°C dans le milieu BHIB après 24h , 48 h , et 72 h d'incubation.

Dans le but d'évaluer la capacité de formation des biofilms par des souches de *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* isolées à partir de la viande de poulet crue commercialisée dans la région de Tlemcen et à partir du Doner Kebab commercialisé dans la meme région, la technique des microplaques de titration à 96 puits en PVC, la technique de la gélose au Rouge Congo et les surfaces solides en acier inoxydable sont envisagées.

Nos résultats montrent que la majorité des souches de *Bacillus cereus* (90%) ne sont pas formatrices de biofilm sur les microplaques de titration à 96 puits en PVC, 10% sont formatrices avec une faible capacité, et 100% des souches de *Staphylococcus aureus* sont formatrices de biofilm avec une faible capacité. Ces résultats suggèrent que la formation de biofilm par *B. cereus* pourrait être largement influencée par leur source d'isolement. Nos résultats sont en accord avec les résultats de **Hussain et Oh (2018)** montrant que des souches de *B. cereus* provenant d'isolats humains et agricoles cultivées dans des microplaques de titration à 96 puits ont des capacités de formation de biofilm significativement supérieures à celles des isolats alimentaires après 24 h d'incubation. Dans une autre étude, environ 50% des isolats de *B. cereus* associés à des maladies du sol et des maladies diarrhéiques étaient positifs pour la formation de biofilm sur du chlorure

### *Partie III. Résultats et discussion*

de polyvinyle alors qu'aucune des souches émétiques ou des isolats de maladies buccales ne formait des biofilm sur ce matériau (Auger *et al.*, 2009). Cependant, nos résultats étaient différents de ceux rapportés par Kamar *et al.*, (2012), montrant qu'il n'y avait pas de différence significative dans la formation de biofilm par des souches isolées de différentes sources, telles que les échantillons pathogènes, les intoxications alimentaires et les échantillons cliniques, et aucun lien n'a été observé entre la formation de biofilm sur le PVC et l'origine de la souche. La formation de biofilm est liée à la nature de la surface, Ban *et al.*, (2014) qui ont montrés que le PVC est un matériau hydrophobe, alors que l'acier inoxydable est hydrophile avec une charge de surface négative. Les caractéristiques hydrophobes des surfaces des matériaux affectent l'attachement ou le détachement bactérien à la surface et par conséquent la formation de biofilm. Selon Bonsaglia *et al.*, (2014), les bactéries ont adhérées et ont formées un biofilm plus efficacement sur des surfaces hydrophiles, y compris l'acier inoxydable et le verre.

Sur l'acier inoxydable 40% des souches de *Bacillus cereus* et 70% des souches de *Staphylococcus aureus* ne sont pas formatrices de biofilm. 55% des souches de *Bacillus cereus* et 27% des souches de *Staphylococcus aureus* sont formatrice de biofilm sur l'acier inoxydable. D'après les résultats obtenus, une faible capacité de formation de biofilm sur l'acier inoxydable est enregistrée. Heloísa *et al.*, (2012) ont montré que la formation de biofilm sur l'acier inoxydable par *S. aureus* isolée des usines de transformation des aliments était avec un taux de  $10^8$  ufc/cm<sup>2</sup>.

D'après Oliveira (2014) 42 % des 31 souches de *S. aureus* isolées d'environnements de traite étaient productrices de biofilm sur l'acier inoxydable. Alor que Marques *et al.*; (2007) a étudié la formation de biofilm par *S. aureus* isolées des industries alimentaires sur les surfaces en acier et en verre. Le nombre des bactéries était de l'ordre de  $10^7$  et  $10^8$  ufc/cm<sup>2</sup>. Nos résultats étaient différents de ceux rapportés par Lee *et al.*, (2015) montrant que la formation de biofilm par des souches de *Staphylococcus aureus* était plus élevée sur l'acier inoxydable que sur les microplaques de titration. Les résultats obtenus révèlent qu'il ya des souches qui sont non formatrice de biofilm après différent temps d'incubation et d'autre souches sont faiblement formatrice de biofilm et une seule souche à une capacité modérée de formation de biofilm. Tsuneda *et al.*, (2003) ont indiqué que *S. aureus* ont adhéré sur la surfaces d'acier inoxydable pendant 72 h d'incubation à 7 °C et 28 °C avec un taux de  $10^5$  à  $10^6$  ufc/cm<sup>2</sup>. Dans une étude réalisée sur les biofilms de *B. cereus*, il a été indiqué qu'il n'existait aucun impact de l'origine

### *Partie III. Résultats et discussion*

sur la capacité de formation de biofilm de souches isolées de différentes conditions environnementales (Majedet *et al.*, 2016).

D'après les résultats obtenus il y a une variation de capacité de formation de biofilm pendant les trois durées d'incubation sur l'acier inoxydable. Ces résultats sont en accord à ceux obtenus par **Kwon *et al.*, (2017)** qui a montré que le milieu de croissance ainsi que le temps d'incubation pourraient affecter la formation de biofilm de *B. cereus*. Un résultat similaire a été rapporté précédemment par **Hayrapetyan *et al.*, (2015)** qui a été montré que certaines souches de *B. cereus* formaient des quantités de biofilms significativement plus élevées après 48h qu'après 24h, alors que certaines souches ne présentaient aucun changement dans la formation de biofilm.

Cependant les résultats obtenus révèlent que 51.61% des souches étudiées dans notre étude ne présentent pas les mêmes capacités de formation de biofilm sur des surfaces différentes. Par exemple les souches de *Bacillus cereus* EH 9/3<sup>E</sup> et ES 61/1<sup>E</sup> ne forme pas des biofilm sur le pvc et ont une faible capacité de formation de biofilm sur l'acier. Les souches de *staphylococcus aureus* 2C, 25C ne forment pas de biofilm sur l'acier inoxydable et ont une faible capacité de formation de biofilm sur le PVC. Ceci est conforme à une étude menée par **Hayrapetyan en 2017**, qui a montré que la formation de biofilms par *B. cereus* s'est avérée être fortement affectée par le matériau de contact. **Jo *et al.*, (2010)** ont également déterminé que la capacité de formation de biofilm sur des surfaces solides était affectée par le type de surface. De même, les isolats d'animaux de *S. aureus* ont montré une capacité de formation de biofilm supérieure à celle des isolats de plantes (**Kim *et al.*, 2016**), ce qui peut s'expliquer par les différences dans les conditions optimales de formation de biofilm pour chaque groupe d'isolats, y compris la surface et le milieu utilisé (**Fabres-Klein *et al.*, 2015 ; Chagnot *et al.*, 2013**). La souche EM71/2<sup>E</sup> de *Bacillus cereus* avait une capacité modérée de formation de biofilm sur l'acier inoxydable et non formatrice sur le PVC, **Hayrapetyan *et al.*, (2015)** ont signalait aussi qu'une quantité significativement plus élevée de formation de biofilm sur l'acier inoxydable par rapport aux d'autres surfaces pour les isolats alimentaires de *B. cereus*. Cette plus grande quantité de biofilm formé par *B. cereus* (capable de produire des spores, qui sont hydrophobes) sur l'acier inoxydable (une surface hydrophobe) pourrait être due aux différences de propriétés thermodynamiques qui facilitent leur adhérence. Ces données indiquent que les propriétés de la surface ont une incidence importante sur la formation de biofilm.

Chez les bactéries, la production d'une couche mince de nature polysaccharidique, appelée « slime » constitue un facteur majeur dans la formation du biofilm, en jouant un rôle



### *Partie III. Résultats et discussion*

remarquable dans l'adhérence et la colonisation des surfaces (**O'Gara et Humphreys, 2001**). Chez *Staphylococcus aureus*, le "slime" est composé principalement d'un polysaccharide intercellulaire adhésine (PIA), où il représente probablement le composant majeur de la matrice extracellulaire du biofilm (**Joo et Otto, 2012**). La gélose Rouge Congo est un milieu très convenable pour la détection des souches productrices de slime. Sur ce milieu, les souches de *S.aureus* et *B.cereus* exprimant de slime donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches non productrices de slime (**Chaieb et al., 2005**).

La méthode de gélose au Rouge Congo est largement utilisée pour identifier les souches de *Staphylococcus aureus* productrices de slime ou de biofilm. Cependant, cette méthode n'a pas permis d'identifier avec précision les souches productrices de slime (**Lee et al., 2016**). Les travaux de **Hassan et al., (2011)** ont rapporté qu'elle est précise à 41% seulement pour la détection des souches formant des biofilms et (**Nayak et al., 2011**) ont trouvés que 65,6% des isolats étaient producteurs de slime par la méthode de gélose au Rouge Congo et 75% des isolats étaient formatrice de biofilm. Notre résultat est en accord avec les résultats de **Queiroga et al., (2018)** qui ont montrés que seuls 7.3% des souches de *S. epidermidis* ont la capacité de produire du slime, et 8% des souches sont productrices de biofilm et toutes les isouches qui ont la capacité de produire du slime sont aussi formatrices des biofilms. Nos résultats concordent avec ceux de **Meghrni et al., (2014)** qui avaient noté une corrélation positive entre la capacité de production de slime sur la gélose au Rouge Congo et la capacité de formation des biofilms développés sur la microplaque de titration. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de **Torlak et al., (2017)** qui avaient déclaré que le test de la gélose au rouge Congo avait produit un pourcentage de résultats positifs plus faible par rapport au dosage de coloration au cristal violet, Sur 32 isolats, 15 isolats (46,9%) ont produit des colonies noires caractéristiques sur gélose au Rouge Congo, et ont été classés en tant que producteurs de slime. Le test de coloration du CV a révélé que 29 isolats de *S. aureus* (90,6%) étaient capables de former un biofilm. Les 15 isolats slime positifs ont également été classés comme biofilm positifs, tandis que 14 isolats présentant un phénotype biofilm positif présentaient des colonies rouges sur la gélose au Rouge Congo.

## Chapitre 2 : Évolution de l'effet l'ail « *Allium sativum* » sur des biofilms à *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'évaluation de l'effet l'ail « *Allium sativum* » sur des biofilms à *Staphylococcus aureus* sont repris dans la figure 22. D'après ces résultats, on remarque que *Staphylococcus aureus* est une bactérie sensible aux différentes concentrations de l'ail avec une réduction logarithmique des cellules de biofilm récupérées à partir de coupons de l'acier inoxydable qui varient entre 0,014 et 1,25. Nous constatons qu'avec l'augmentation des concentrations de l'ail et dutemps de traitement, il y a une réduction remarquable de biofilm. Pour les trois concentrations testées, il y a une petite réduction logarithmique après un temps de traitement de 5min. pour le traitement avec une concentration de 1% la réduction logarithmique atteint 0,67 après 15 min de traitement. Les résultats ont montré une augmentation remarquable de la réduction dans le nombre des cellules formant le biofilm après le traitement a 2%, cette réduction été de 0,055 après 5 min de traitement, après 10min la réduction a augmentée jusqu'à 0,84 mais après 15 min elle a diminué a 0,67, le traitement avec une concentration de 3% atteint 1,25 après 15 min de traitement et 0.64 après 10 min.

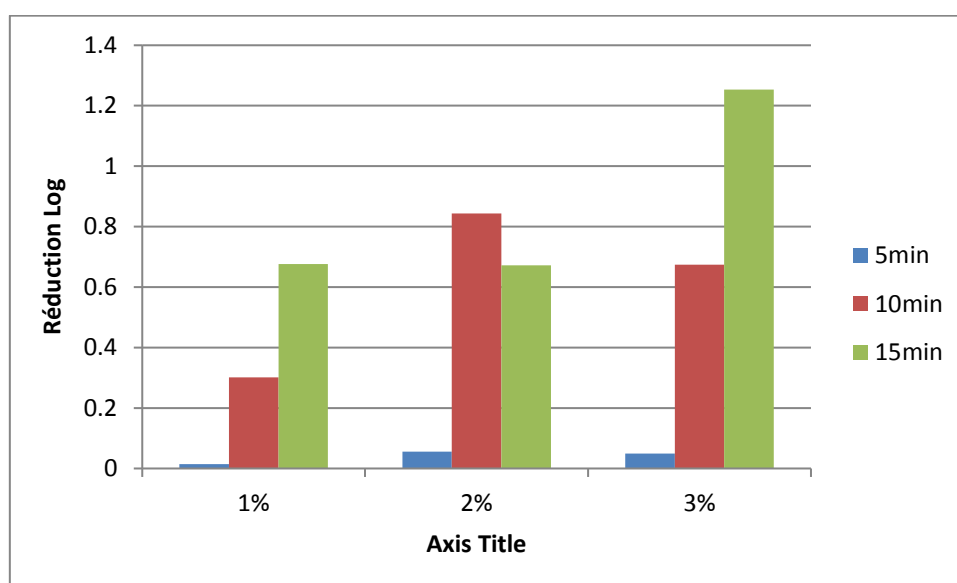


Figure 22: Effet inhibiteur de l'*Allium sativum* sur le biofilm de *Staphylococcus aureus*

### *Partie III. Résultats et discussion*

Les extraits de l'*Allium sativum* ont une activité antibactérienne contre les agents pathogènes alimentaires tel que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Ils sont très efficaces pour inhiber les structures du biofilm, ces extraits peuvent inhiber jusqu'à 50 % de la formation de biofilm. L'activité métabolique des bactéries dans les biofilms traités avec les extraits d'ail est généralement diminuée. Des études ont montré que la concentration de chaque extrait a une relation directe avec l'effet inhibiteur. D'autre étude a montrée que l'extrait d'éthanol a un effet inhibiteur meilleur sur *Bacillus cereus* que l'extrait de méthanol. Ce dernier n'a aucun effet sur *Staphylococcus aureus* (Al Bayati, 2017 ; Mohsenipour et Hassanshahian, 2015 ; Lim, 2015 ; Houshmand *et al.*, 2013 ). Semblable à notre étude, d'autres chercheurs ont également observé l'effet inhibiteur de l'ail contre les bactéries. Ils ont confirmés les propriétés antimicrobiennes de *A. sativum* contre différents microorganismes tels que: *B. subtilis*, *S. typhi*, *S. typhimurium*, *Proteus mirabilis* et *staphylococcus aureus* (Bachrach *et al.*, 2011 ; Hovanaet *et al.*, 2011). Selon Nidadavolu *et al.*, (2012) l'ail présentait une activité antibiofilm contre des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Par rapport aux bactéries non traités par l'extrait de l'ail, le nombre de colonies bactériennes viables obtenues à partir de biofilms raclés et les valeurs d'absorbance du cristal violet représentant les taux de biofilm étaient significativement réduits (Ratthawongjirakul et Thongkerd, 2016).

D'après nos résultats l'effet d'*Allium sativum* a augmenté avec l'augmentation des concentrations. Ceci est conforme à une étude menée par Birringet *et al.*, (2015) qui ont constaté qu'une concentration de 40% et 70% de l'extrait de l'ail avait une activité antimicrobienne significative contre le biofilm de *E. faecalis*. Il a signalé aussi qu'une concentration de 10% de l'extrait de l'ail a un effet limité dans la réduction du nombre de *E. faecalis* ainsi que son biofilm. Lee *et al.*, (2011) ont trouvé que la concentration minimale inhibitrice de l'extrait de l'ail sur la croissance d'*E. Faecalis* est de 12,8%. Mathur *et al.*, (2013) ont montré que l'*A. Sativum* peut réduire la formation de biofilms de *K. pneumoniae* jusqu'à 47,5%. Mohsenipour et ses collaborateurs (2015) ont montré que les extraits d'ail pourraient réduire jusqu'à 62,72% la formation de biofilms de la bactérie. Par conséquent, cette distinction entre les résultats des deux études peut être corrélée à différents instruments choisis pour la formation de biofilm ou à des différences entre les isolats bactériens dans ces études. D'autres résultats ont montré que l'extrait éthanolique à la concentration (300 mg/ml) avait une forte activité antibactérienne contre les isolats de *Staphylococcus aureus* formant des biofilms, pendant que d'autres concentrations d'extraits (150,75 mg/ml) n'ont aucune activité antibactérienne donc l'activité d'inhibition dépend des concentrations.

### Partie III. Résultats et discussion

En ce qui concerne les structures de biofilm, la capacité de l'extrait d'*A. Sativum* à inhiber la formation de biofilm est directement corrélée à la concentration (**Mohsenipouret Hassanshahian, 2015**). Pour les trois concentrations testées, il y a une petite réduction logarithmique après un temps de traitement de 5min. Notre étude est en accord avec celle de **Booyens et Thantsha (2013)** qui ont signalé que des périodes d'exposition de plus de 6 h à l'ail peuvent être nécessaire pour observer une réduction de la viabilité de *B. lactis* car il n'y a pas eu de diminution pendant les 6 h. Cela met en évidence que le temps d'exposition à l'ail a un effet sur l'inhibition des bactéries.

**Nidadavolu et al., (2012)** ont signalé que la poudre de l'ail a un effet inhibiteur sur la croissance de *P. aeruginosa* et de *S. aureus*. D'autres chercheurs ont montrés que l'activité antibactérienne de l'ail frais s'est avérée supérieure à celle de la poudre d'ail (**Pakdel et al., 2017 ;Sallam et al.,2004**). D'autres chercheurs (**Pakdel et al., 2017 ;Mohsenipouret Hassanshahian, 2015**) n'ont pas enregistré d'activité antibactérienne importante pour les extrait alcooliques d'ail. L'extrait d'éthanol a été testé pour l'activité antimicrobienne contre *Bacillus cereus* et *Staphylococcus* à coagulase positive et meme des *staphylococcus* à coagulase négative. les résultats ont montré que l'extrait d'éthanol était actif contre ces bactéries et son efficacité a été liée aux molécules qui traversent les membranes cellulaires et réagissent biologiquement au faible niveau des liaisons thiol dans les acides aminés (**Chekki et al., 2014**).Cependant, de nombreux facteurs peuvent affecter les résultats tels que l'origine végétale, la période de l'année, les méthodes d'extraction, les souches microbiennes et même la méthodologie du test et les conditions de stockage (**Bayati, 2018; Pakdel et al., 2017**).

**Ratthawongjirakul et Thongkerd (2016)** ont établi deux conditions de culture *in vitro* pour étudier les effets de l'ail sur la formation de biofilms chez *S. aureus*, pour la première expérience les bactéries ont été cultivées en présence de l'ail. Pour la deuxième expérience, l'ail a été ajouté à la culture après la formation du biofilm mature. Cependant, l'analyse statistique n'a démontré aucune différence significative dans la réduction de la formation de biofilm entre ces deux conditions. De nombreuses bactéries pathogènes utilisent le système de détection de quorum (QS) pour coordonner l'expression de la virulence bactérienne, y compris le développement du biofilm (**Bhardwaj et al., 2013**). Ainsi, le QS pourrait être une stratégie prometteuse pour contrôler la virulence bactérienne. Certaines études ont suggéré que l'ail était un composé susceptible d'interférer avec le QS. L'analyse a révélé que l'Ajoene (un composé contenant du soufre dérivé de l'ail) inhibait spécifiquement l'expression du gène de QS chez *P. aeruginosa* (**Jakobsen et al., 2012**). L'allicine a diminué les signaux détectant le quorum et inhibé les

### *Partie III. Résultats et discussion*

facteurs de virulence contrôlés par le QS chez *P. aeruginosa* (**Lihua et al., 2013 ; Rasmussen et al., 2005**). Ces résultats suggèrent que la réduction de la formation de biofilms pourrait refléter les propriétés inhibitrices de l'ail détectant le quorum sensing.

Dans notre étude, les bulbes d'ail ont été séchés et la poudre a été traitée sans aucune exposition à des températures élevées pendant toute la procédure afin de préserver l'allicine, le composant antimicrobien le plus important de l'ail, et d'éliminer le risque d'inactivation de ses composants importants. Cette procédure efficace de préservation de la désactivation de l'allicine a été confirmée par une étude menée par **Chavan et al., (2010)**, qui a signalé que de nombreuses propriétés thérapeutiques de l'ail sont détruites lorsqu'elles sont soumises à la chaleur. L'étude expérimentale de **Wu et al., (2014)** comprenait une évaluation de l'extrait d'éthanol de l'ail pour sa teneur en allicine. Une diminution de la formation de biofilm a été observée à une concentration égale à 0,098 ug/ml d'allicine. Ainsi, **Ratthawongjirakul et Thongkerd (2016)** ont proposé que les activités antibactériennes ou antibiofilm de l'ail contre *S. aureus* puissent refléter principalement l'activité de l'allicine. La variation de l'inhibition entre les différentes bactéries peut être due au contenu des membranes, à la perméabilité de l'allicine et à d'autres constituants de l'ail (**Al Bayati, 2017**). L'activité antimicrobienne de l'ail repose sur deux caractéristiques principales. Premièrement, le composé doit atteindre la cible potentielle. Considérant les cibles intracellulaires, le composé actif de l'ail doit pénétrer dans les cellules microbiennes. Il a été démontré que l'allicine diffuse facilement à travers les membranes phospholipidiques artificielles et naturelles (**Miron et al., 2000**). Il interfère avec des enzymes bactériennes par l'inactivation du groupe thiol (**Reiter et al., 2017 ; Ratthawongjirakul et Thongkerd, 2016**). En outre, l'allicine régule à la baisse l'expression des gènes du biofilm (**Wu et al., 2015**).



*Conclusion*

Les biofilms sont une source de contamination des aliments par des germes indésirables et sont largement incriminés dans la dégradation de la qualité sanitaire de ces aliments et la diminution de leur durée de vie. Le travail que nous avons entrepris est une contribution à l'étude de l'effet d'ail sur les biofilm formé par *Staphylococcus aureus*.

Dan cette étude, nous avons tout d'abord testé la capacité de formation de biofilm de 20 souches de *Bacillus cereus* qu'été isolées de la viande de poulet cru et 11 souches de *Staphylococcus aureus*, isolées du Döner Kebab prêt à manger, sur l'acier inoxydable pendant 24h, 48h, 72h et sur le pvc et avec la gélose au Rouge Congo.

L'évaluation de la formation du biofilm a montré qu'il ya des souches formatrices de biofilm et d'autre souches sont non formatrices de biofilm sur les deux surfaces, d'une part. D'autre part, des souches sont productrices de slime et d'autre ne l'ont pas produits sur la gélose au Rouge Congo.

Dans le cadre de la lutte contre les biofilms formés par les souches de *Staphylococcus aureus* sur l'acier inoxydable, on a évalué l'effet d'ail sur ces biofilms formés par différentes concentrations (1%-2%-3%) et chaque concentration pendant 3 durées de temps (5-10-15) min.

Nos résultats ont montré qu'il y a une réduction logarithmique des cellules de biofilm de *Staphylococcus aureus* avec les 3 concentrations. Avec l'augmentation des concentrations d'ail et de temps de traitement, il y a une diminution remarquable de biofilm. Cela indique que la poudre de l'ail a une activité antibactérienne contre cet agent pathogène alimentaire.

En fin dans des travaux à venir, il serait intéressant d'approfondir les recherches sur le composé d'ail plus efficace tout en réalisant son extraction et sa purification pour le tester à différentes concentrations sur des biofilms à *Staphylococcus* et même sur des biofilms mixtes formés par *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*.







*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P., & Chihib, N. E. (2014). Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Archives of Microbiology*, 196(7), 453–472. <https://doi.org/10.1007/s00203-014-0983-1>
- Abee, T., Nierop, M., Tempelaars, M., Zwietering, M., Moezelaar, R., & Voort, M. Van Der. (2011). Germination and outgrowth of spores of *Bacillus cereus* group members : Diversity and role of germinant receptors. *Food Microbiology*, 28(2), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.03.015>
- Abhyankar, W. R., Wen, J., Swarge, B. N., Tu, Z., Boer, R. De, & Smelt, J. P. P. M. (2018). Proteomics and microscopy tools for the study of antimicrobial resistance and germination mechanisms of bacterial spores. *Food Microbiology*, 81, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.03.006>
- Abhyankar, W., Hossain, A. H., Djajasaputra, A., Permpoonpattana, P., Ter Beek, A., Dekker, H. L., ... De Koster, C. G. (2013). In pursuit of protein targets: Proteomic characterization of bacterial spore outer layers. *Journal of Proteome Research*, 12(10), 4507–4521. <https://doi.org/10.1021/pr4005629>
- Abiy, E., & Berhe, A. (2016). iMedPub Journals Anti-Bacterial Effect of Garlic ( *Allium sativum* ) against Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from Patients Attending Hawassa Referral Hospital , Ethiopia Abstract Emergence of Methicillin Resistant Strains of. *Journal of Infectious Diseases and Treatment*, 1–5. <https://doi.org/10.21767/2472-1093.100023>
- Abraha, A., Bikila, T., Alemu, S., & Muktar, Y. (2017). *Bacillus cereus* isolation and load from raw cow milk sold in markets of Haramaya district, eastern Ethiopia. *International Journal of Food Contamination*, 4(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s40550-017-0060-z>

## Références bibliographiques

- Al-Bayati, S. (2017). Antibacterial Effect of Ethanolic Extract of *Allium sativum* on Biofilm Forming *Staphylococcus aureus* which Cause Folliculitis. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(01), 1904–1913.
- ALI, A., JAVAID, A., & SHOAIB, A. (2017). GC-MS ANALYSIS AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF METHANOLIC ROOT EXTRACT OF *Chenopodium album* AGAINST *Sclerotium rolfsii*. *Planta Daninha*, 35(0), 1–8. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582017350100046>
- Amor, K. B., P. Breeuwer, P. Verbaarschot, F. M. Rombouts, A. D. Akkermans, W. M.
- Arnault, I., & Auger, J. (2006). Seleno-compounds in garlic and onion. *Journal of Chromatography A*, 1112(1–2), 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.036>
- Auger, S., Ramarao, N., & Faille, C. (2009). Biofilm Formation and Cell Surface Properties among Pathogenic and Nonpathogenic Strains of the *Bacillus cereus* Group. *APPL.ENVIRON.MICROBIOL.*, 75(20), 6616–6618. <https://doi.org/10.1128/AEM.00155-09>
- Aydin, A., Sudagidan, M., & Muratoglu, K. (2011). International Journal of Food Microbiology Prevalence of staphylococcal enterotoxins , toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *International Journal of Food Microbiology*, 148(2), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.007>
- Ayé,M.(2015).Mise en évidence du système de communication quorum Sensing impliquant les AHLs des bactéries marine isolés de la méditerranée. Thèse de doctorat de l'Université de Toulon.
- Bachrach, G., Jamil, A., Naor, R., Tal, G., Ludmer, Z. & Steinberg, D. (2011). Garlic allicin as a potential agent for controlling oral pathogens. *J Med Food* 14, 1338–1343.
- Ban, G.-H., Yoon, H., & Kang, D.-H. (2014). A comparison of saturated steam and superheated steam for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* biofilms on polyvinyl chloride and stainless steel. *Food Control*, 40, 344–350. doi:10.1016/j.foodcont.2013.12.017

## Références bibliographiques

- Bandna, C. (2013). Antibacterial effect of garlic (*Allium Sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(4), 2481–2491.
- Baumgartner, S., Dax, T. G., Praznik, W., & Falk, H. (2000). Characterisation of the high-molecular weight fructan isolated from garlic (*Allium sativum* L.). *Carbohydrate Research*, 328(2), 177–183. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)00097-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)00097-5)
- Bazaka, K., Jacob, M.V., Crawford, R. J., Crawford,E.,& Ivanova, P. (2012). Efficient surface modification of biomaterial lto prevents biofilm formation and the attachment of microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95: 299-311.
- Becker, K., Ballhausen, B., Köck, R., & Kriegeskorte, A. (2014). Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: The “mec alphabet” with specific consideration of mecC, a mec homolog associated with zoonotic *S. aureus* lineages. *International Journal of Medical Microbiology*, 304(7), 794–804. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.06.007>
- Berthold-pluta, A., Pluta, A., & Garbowska, M. (2015). Microbial Pathogenesis The effect of selected factors on the survival of *Bacillus cereus* in the human gastrointestinal tract. *Microbial Pathogenesis*, 82, 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.03.015>
- Bhardwaj, A. K., Vinothkumar, K., & Rajpara, N. (2013). Bacterial Quorum Sensing Inhibitors: Attractive Alternatives for Control of Infectious Pathogens Showing Multiple Drug Resistance. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 8(1), 68–83. <https://doi.org/10.2174/157489113805290809>
- Birring, O. J. S., Vilorio, I. L., & Nunez, P. (2015). Anti-microbial efficacy of *Allium sativum* extract against *Enterococcus faecalis* biofilm and its penetration into the root dentin : An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*, 26, 477–482. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.172041>
- Bonsaglia, E. C. R., Silva, N. C. C., Fernandes Júnior, A., Araújo Júnior, J. P., Tsunemi, M. H., & Rall, V. L. M. (2014). Production of biofilm by *Listeria monocytogenes* in different materials and temperatures. *Food Control*, 35(1), 386–391. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.07.023>

## Références bibliographiques

- Booyens, J., & Thantsha, M. S. (2013). Antibacterial effect of hydrosoluble extracts of garlic (*Allium sativum*) against *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*. *African Journal of Microbiology Research* Vol., 7(8), 669–677. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1906>
- Bouyahya, A., Dakka, N., Et-touys, A., Abrini, J., & Bakri, Y. (2017). Medicinal plant products targeting quorum sensing for combating bacterial infections. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.021>
- BRESSUIRE-ISOARD, C. (2015). Mécanisme d'assemblage des enveloppes de la spore en fonction de la température de sporulation: rôle de la protéine morphogénétique CotE chez *Bacillus cereus*. Université de Montpellier.
- Castro, A., Silva, J., & Teixeira, P. (2018). a Food Pathogen: Virulence Factors and Antibiotic Resistance. In *Foodborne Diseases*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811444-5/00008-7>
- Celandroni, F., Salvetti, S., Gueye, S. A., & Mazzantini, D. (2016). Identification and Pathogenic Potential of Clinical *Bacillus* and *Paenibacillus* Isolates. *PLoS ONE*, 11(3), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152831>
- Celandroni, F., Salvetti, S., Senesi, S., & Ghelardi, E. (2014). *Bacillus thuringiensis*. *Ezio Ricca*, 1–26. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12615>
- Ceuppens, S., Timmery, S., Mahillon, J., Uyttendaele, M., & Boon, N. (2013). Small *Bacillus cereus* ATCC 14579 subpopulations are responsible for cytotoxin K production. *Journal of Applied Microbiology*, 114(3), 899–906. <https://doi.org/10.1111/jam.12096>
- Chagnot, C., Agus, A., Renier, S., Peyrin, F., Talon, R., Astruc, T., & Desvaux, M. (2013). In Vitro Colonization of the Muscle Extracellular Matrix Components by *Escherichia coli* O157:H7: The Influence of Growth Medium, Temperature and pH on Initial Adhesion and Induction of Biofilm Formation by Collagens I and III. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059386>

## Références bibliographiques

- Chaieb K., Mandouani K., Bakhrouf A. (2005). Detection of *icaA* and *icaD* loci by Polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit, *Journal of Hospital Infection*, (61) 225-230.
- Chandrashekar, P. M., Prashanth, K. V. H., & Venkatesh, Y. P. (2011). Isolation, structural elucidation and immunomodulatory activity of fructans from aged garlic extract. *Phytochemistry*, 72(2-3), 255-264. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.015>
- Chavan, S. D., Shetty, N. L., & Kanuri, M. (2010). Comparative evaluation of garlic extract mouthwash and chlorhexidine mouthwash on salivary *Streptococcus mutans* count-an in vitro study. *Oral health & preventive dentistry*, 8(4), 369-374.
- Chekki, R. Z., Snoussi, A., Hamrouni, I., & Bouzouita, N. (2014). Chemical composition , antibacterial and antioxidant activities of Tunisian garlic ( *Allium sativum* ) essential oil and ethanol extract. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(4), 947-956.
- Chrif Antar, A. (2015). Identification et caractérisation de la flore bactérienne mésophile constitutive des biofilms inféodés aux lignes de production de lait de vache pasteurisé. Optimisation d'une procédure de nettoyage et de désinfection pour la lutte contre ces biofilms. Thèse Doctorat ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN.
- Coleman, W. H., Zhang, P., Li, Y., & Setlow, P. (2010). Mechanism of killing of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus megaterium* by wet heat. *Applied Microbiology*, 50, 507-514. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02827.x>
- Colin, L. (2016). L'ail et son interet en phytotherapie. Universite de LORRAINE.
- Daelman, J., Vermeulen, A., Willemys, T., Ongenaert, R., Jacxsens, L., Uyttendaele, M., & Devlieghere, F. (2013). Growth/no growth models for heat-treated psychrotrophic *Bacillus cereus* spores under cold storage. *International Journal of Food Microbiology*, 161(1), 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.017>
- Daryaei, H., Balasubramaniam, V. M., & LEGAN, J. D. (2013). Kinetics of *Bacillus cereus* Spore Inactivation in Cooked Rice by Combined Pressure-Heat Treatment. *Journal of Food Protection*, 76(4), 616-623. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-12-447>

## Références bibliographiques

- De Vos, and T. Abee. 2002. Multiparametric flow cytometry and cell sorting for the assessment of viable, injured, and dead bifidobacterium cells during bile salt stress. *Appl Environ Microbiol* 68:5209-5216.
- Dezfulian, A., Mt, S., Amini, V., Dabiri, H., Azimirad, M., & Mm, A. (2010). Catalase-negative *Staphylococcus aureus* isolated from a diabetic foot ulcer. *Iranian Journal of Microbiology*, 2(3), 165–167.
- Djordjevic, D., Wiedmann, M., & Mclandsborough, L. A. (2002). Microtiter Plate Assay for Assessment of. *Society*, 68(6), 2950–2958. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.6.2950>
- Dubravka, M., Lazic, S., Branka, V., Jelena, P., Bugarski, D., & Zorica, S. (2010). Slime production and biofilm forming ability by *staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates. *Acta Veterinaria*, 60(2–3), 217–226. <https://doi.org/10.2298/AVB1003321>
- Dupont, F., & Guignard J. L. *Botanique : les familles de plantes*. 15ème éd. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2012, 300p.
- El-gayar, M. H., Aboshanab, K. M., Aboulwafa, M. M., & Hassouna, N. A. (2016). Antivirulence and wound healing effects of royal jelly and garlic extract for the control of MRSA skin infections. *Biochemical Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2016.05.004>
- Ernst, M. K., Chatterton, N. J., Harrison, P. A., & Matitschka, G. (1998). Characterization of fructan oligomers from species of the genus *Allium* L. *Journal of Plant Physiology*, 153(1–2), 53–60.
- Errington, J. (2003). Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. *Nature Reviews Microbiology*, 1(2), 117–126. <https://doi.org/10.1038/nrmicro750>
- Evans, J. A., Russell, S. L., James, C., & Corry, J. E. L. (2004). Microbial contamination of food refrigeration equipment. *Journal of Food Engineering*, 62(3), 225–232. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00235-8](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00235-8)

## Références bibliographiques

- Evelyn, & Silva, F. V. M. (2018). Differences in the resistance of microbial spores to thermosonication, high pressure thermal processing and thermal treatment alone. *Journal of Food Engineering*. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.037>
- Fabres-klein, M. H., Junior, M., Santos, C., Klein, R. C., Souza, G. N. De, Oliveira, A. De, & Ribon, B. (2015). An association between milk and slime increases biofilm production by bovine *Staphylococcus aureus*. *BMC Veterinary Research*, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0319-7>
- Faille, C., Bénézech, T., Midelet-bourdin, G., Lequette, Y., Clarisse, M., Ronse, G., ... Slomianny, C. (2014). Sporulation of *Bacillus* spp . within bio fi lms : A potential source of contamination in food processing environments. *Food Microbiology*, 40, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.12.004>
- Fisarova, L., Pantucek, R., Botka, T., & Doskar, J. (2018). Variability of resistance plasmids in coagulase-negative staphylococci and their importance as a reservoir of antimicrobial resistance. *Research in Microbiology Journal*, 170, 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.11.004>
- Flemming, H. C. (2011). The perfect slime. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86(2), 251–259. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.04.025>
- Flemming, H. C., and J. Wingender. 2010. The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol.* 8:623–633.
- Fратиanni, F., Ombra, M. N., Cozzolino, A., Riccardi, R., Spigno, P., Tremonte, P., ... Nazzaro, F. (2016). and anti-proliferative activities of different endemic Italian varieties of garlic ( *Allium sativum* L .). *Science Direct*, 21, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.019>
- Freeman DJ, Falkiner FR, K. C. (1989). Slime, New method for detecting Negative, production by coagulase. *J Clin Pathol*, 42(8), 872–874.
- Gerbeaud X. Ail - allium sativum [Internet]. gerbeaud.com. 2008 [cité 13 oct 2015]. Disponible sur:<http://www.gerbeaud.com/fruit-legume-de-saison/ail-allium-sativum.php>



## Références bibliographiques

- Gerges-Geaga, A. (2015). Les bienfaits de la marche sur la santé. *Phytothérapie*, 2, 46–47.
- Giaouris, E. E., & Simões, M. V. (2018). in the Food Industry and Alternative Control Strategies. In *Foodborne Diseases*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811444-5/00011-7>
- Giaouris, E., Heir, E., Hébraud, M., Chorianopoulos, N., Langsrud, S., Møretrø, T., Habimana, O., Desvaux, M., Renier, S., Nychas, G.-J., (2013). Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat Sci.* 97, 298–309. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.023>.
- Gingichashvili, S., Duanis-Assaf, D., Shemesh, M., Featherstone, J. D. B., Feuerstein, O., & Steinberg, D. (2017). *Bacillus subtilis* Biofilm Development – A Computerized Study of Morphology and Kinetics. *Frontiers in Microbiology*, 8. doi:10.3389/fmicb.2017.02072
- Girish, V. M., Liang, H., Aguilan, J. T., Nosanchuk, J. D., Friedman, J. M., & Nacharaju, P. (2019). Anti-biofilm activity of garlic extract loaded nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 20, 102009.
- Guinta, A. R. (2010). *NEW APPROACHES FOR CONTROLLING BIOFILM FORMATION*. University of New Jersey.
- Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S. M., Samra, Z. Q., & Athar, A. M. (2012). Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. 1–6.
- Gunduz, G. T., & Tuncel, G. (2006). Biofilm formation in an ice cream plant. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 89(3–4), 329–336. <https://doi.org/10.1007/s10482-005-9035-9>
- Gupta, S., Kapur, S., DV, P., & Verma, A. (2015). Garlic : An effective functional food to combat the growing antimicrobial resistance Garlic : An Effective Functional Food to Combat the Growing Antimicrobial Resistance. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 38(2), 271–278.

## Références bibliographiques

- Hamedi, I. (2015). Evaluation de la formation de biofilm des souches d'*Acinetobacter Baumannii* isolées de dispositifs médicaux CHU de tlemcen. thèse de doctorat de l'Université de ABOU BEKR BELKAID TLEMEN.
- Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A., & Iqbal, M. (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 15(4), 305–311. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702011000400002>
- Hathroubi, S. (2016). Rôle des polysaccharides de surface dans la formation des biofilms et rôle du biofilm d' *Actinobacillus pleuropneumoniae* dans la pathogénicité. Université de Montréal.
- Hayrapetyan, H. (2017). *Bacillus cereus* growth and biofilm formation: the impact of substratum, iron sources, and transcriptional regulator Sigma 54. Wageningen University.
- Hayrapetyan, H., Abee, T., & Nierop, M. (2016). Sporulation dynamics and spore heat resistance in wet and dry biofilms of *Bacillus cereus*. *Food Control*, 60, 493–499. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.027>
- Hayrapetyan, H., Muller, L., Tempelaars, M., Abee, T., & Nierop, M. (2015). International Journal of Food Microbiology Comparative analysis of biofilm formation by *Bacillus cereus* reference strains and undomesticated food isolates and the effect of free iron. *International Journal of Food Microbiology*, 200, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.005>
- Heloísa, M., Ângelo, J., Rita, D. C., Egypto Queiroga, Ana, C., Vieira, D. C, Isabella, M., B.,
- Hennekinne, J. A., De Buyser, M. L., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: Characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 815–836. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>
- Higgins, D., & Dworkin, J. (2012). Recent progress in *Bacillus subtilis* sporulation. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(1), 131–148. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00310.x>

## Références bibliographiques

- Hischebeth, G. T., Randau, T. M., Ploeger, M. M., Friedrich, M. J., Kaup, E., Jacobs, C., ... Gravius, S. (2019). Staphylococcus aureus versus Staphylococcus epidermidis in periprosthetic joint infection — Outcome analysis of methicillin-resistant versus methicillin-susceptible strains. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease*, 93(2), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.08.012>
- Houry, A., Briandet, R., Aymerich, S., & Gohar, M. (2009). Involvement of motility and flagella in *Bacillus cereus* biofilm formation. *Microbiology* (2010), 1009–1018. <https://doi.org/10.1099/mic.0.034827-0>
- Houry, A., Gohar, M., Deschamps, J., Tischenko, E., Aymerich, S., & Gruss, A., et al. (2012). Bacterial swimmers that infiltrate and take over the biofilm matrix. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 109: 13088–13093.
- Houshmand, B., Mahjour, F., and Dianat, O., 2013. Antibacterial effect of different concentrations of garlic (*Allium sativum*) extract on dental plaque bacteria. *Indian Journal of Dental Research*. 24, 71-75
- Hovana, E.-I. K., James, U. S., James, E., Egbobor, E. M., Egba, A. G., Eta, E. S., & Nwakaku, O. A. (2011). Antibacterial and Phytochemical Studies of *Allium Sativum*. *New York Science Journal*, 4(4), 123–128.
- Hu, Q., Yang, Q., Yamato, O., Yamasaki, M., Maede, Y., & Yoshihara, T (2002) Isolation and identification of organosulfur compounds oxidizing canine erythrocytes from garlic (*Allium sativum*). *J Agric Food Chem* 50(5):1059–1062
- Hussain, M. S., & Deog-Hwan Oh. (2018). Impact of the Isolation Source on the Biofilm Formation Characteristics of *Bacillus cereus*. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 28(1), 77–86.
- Hwang, C., & Huang, L. (2019). Growth and survival of *Bacillus cereus* from spores in cooked rice – One-step dynamic analysis and predictive modeling ☆. *Food Control*, 96(August 2018), 403–409. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.036>
- Iniguez-Moreno, M., Gutiérrez-Lomelí, M., & Avila-Novoa, M. G. (2019). Kinetics of biofilm formation by pathogenic and spoilage microorganisms under conditions that

## Références bibliographiques

- mimic the poultry, meat, and egg processing industries. *International Journal of Food Microbiology*, 303(April), 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.04.012>
- Jakobsen, T. H., Gennip, M. Van, Kerry, R., Shanmugham, M. S., Dahl, L., Alhede, M., ... Bjarnsholt, T. (2012). Ajoene, a Sulfur-Rich Molecule from Garlic, Inhibits Genes Controlled by Quorum Sensing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(5), 2314–2325. <https://doi.org/10.1128/AAC.05919-11>
- Jeßberger, N., Krey, V. M., Rademacher, C., & Böhm, M. (2015). From genome to toxicity : a combinatory approach highlights the complexity of enterotoxin production in *Bacillus cereus*. *Frontiers in Microbiology*, 6(June), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00560>
- Jo, S.-H., Baek, S.-B., Ha, J.-H., & Ha, S.-D. (2010). Maturation and survival of *Cronobacter* biofilms on silicone, polycarbonate, and stainless steel after UV light and ethanol immersion treatments. *Journal of Food Protection*, 73(5), 952–956. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20501047>
- Joo HS, Otto M. Molecular basis of in vivo biofilm formation by bacterial pathogens. *Chem Biol*. 2012;19:1503–13.
- Kaci A. (2014) « Les Déterminants de la compétitivité des entreprises avicoles Algériennes » Thèse Doctorat Ecole Nationale Supérieure Agronomique El- Harrach – Alger
- Kamanna, V. S., & Chandrasekhara, N. (1980). Fatty-acid composition of garlic (*Allium sativum* Linnaeus) lipids. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 57(6), 175–176.
- Kamar, R., Gohar, M., Jéhanno, I., Réjasse, A., Kallassy, M., Lereclus, D., ... Ramaraoa, N. (2012). Pathogenic Potential of *Bacillus cereus* Strains as Revealed by. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(1), 320–323. <https://doi.org/10.1128/JCM.02848-12>
- Kaplan, J.B. ( 2010) Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J Dent Res*, 89:205–218.

## Références bibliographiques

- Karatan, E., & Watnick, P. (2009). Signals, Regulatory Networks, and Materials That Build and Break Bacterial Biofilms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 73(2), 310–347. doi:10.1128/membr.00041-08
- Kharazi, P. R. (2005). Phosphorus , Sulfur , and Silicon and the Related Elements GC and Mass-Spectrometric Comparison of Organo Sulfur Compounds in Two Varieties of Iranian Garlic. Taylor & Francis, (May 2013), 37–41.
- Kim, S., Park, S.-L., Lee, S., Lee, S.-Y., Ko, S., & Yoo, M. (2016). UPLC/ESI-MS/MS analysis of compositional changes for organosulfur compounds in garlic (*Allium sativum* L.) during fermentation. *Food Chemistry*, 211, 555–559. doi:10.1016/j.foodchem.2016.05.102
- Kolari, M., Nuutinen, J., & Salkinoja-Salonen, M. S. (2001). Mechanisms of biofilm formation in paper machine by *Bacillus* species: The role of *Deinococcus geothermalis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 27(6), 343–351. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000201>
- Kong, X., Yang, M., Muhammad, H., Abbas, K., Wu, J., Li, M., & Dong, W. (2018). Antimicrobial genes from *Allium sativum* and *Pinellia ternata* revealed by a *Bacillus subtilis* expression system. *Scientific Reports*, 8(August), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32852-x>
- Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., & Hultgren, S. J. (2013). Bacterial biofilms: Development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a010306>
- Kotiranta, A., Lounatmaa, K., & Haapasalo, M. (2002). Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection*, 21(5–6), 189–198. <https://doi.org/10.1089/10445490260099647>
- Kumar, S., Jitendra, K., Singh, K., Kapoor, V., Sinha, M., Xess, I., ... Dey, S. (2015). Biological Properties and Characterization of ASL50 Protein from Aged *Allium sativum* Bulbs. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(7), 1914–1927. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1687-y>

## Références bibliographiques

- Kumari, S., & Sarkar, P. K. (2016). *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy processing environment. *Food Control*, 69, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.012>
- Kuroki, R., Kawakami, K., Qin, L., Kaji, C., Watanabe, K., Kimura, Y., ... Watanabe, H. (2009). Nosocomial Bacteremia Caused by Biofilm-Forming *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Internal Medicine*, 48(10), 791–796. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.48.1885>
- Kwon, M., Shakhawat, M., Deog, H., & Oh, H. (2017). Biofilm formation of *Bacillus cereus* under food-processing- related conditions. *Food Science and Biotechnology*, 26(4), 1103–1111. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0129-8>
- LAGUNAS, L. M. (2007). L ' Effet Des Conditions Variables De Séchage Sur La Cinétique De Séchage Et La Qualité De L ' Ail. Université Laval, QUÉBEC.
- Lanzotti, V., Bonanomi, G., & Scala, F. (2013). What makes *Allium* species effective against pathogenic microbes ? 751–772. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9295-3>
- Lee, D., Kwon, K., Chai, C., & Oh, S. (2017). LWT - Food Science and Technology Microbial contamination of tofu in Korea and growth characteristics of *Bacillus cereus* isolates in Tofu. *LWT - Food Science and Technology*, 78, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.081>
- Lee, H.-J., Park, H.-S., Kim, K.-H., Kwon, T.-Y., & Hong, S.-H. (2011). Effect of garlic on bacterial biofilm formation on orthodontic wire. *The Angle Orthodontist*, 81(5), 895–900. doi:10.2319/121010-713.1
- Lee, J., Bae, Y., & Lee, S. (2016). Development of Congo red broth method for the detection of biofilm-forming or slime-producing *Staphylococcus* sp. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.023>
- Lee, J., Bae, Y., Lee, S., & Lee, S. (2015). Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* on Various Surfaces and Their Resistance to Chlorine Sanitizer. *Journal of Food Science M2279*, 80(10), 2279–2286. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13017>

## Références bibliographiques

- Leggett, M. J., McDonnell, G., Denyer, S. P., Setlow, P., & Maillard, J.-Y. (2012). Bacterial spore structures and their protective role in biocide resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 113(3), 485–498. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05336.x>
- Lequette, Y., Garénaux, E., Tauveron, G., Dumez, S., Perchat, S., Slomianny, C., ... Faille, C. (2011). Role Played by Exosporium Glycoproteins in the Surface Properties of *Bacillus cereus* Spores and in Their Adhesion to Stainless Steel. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(14), 4905–4911. <https://doi.org/10.1128/aem.02872-10>
- Lerasle, M., Duranton, F., Simonin, H., Membré, J. M., Chéret, R., De Lamballerie, M., ... Federighi, M. (2012). Traitements par hautes pressions hydrostatiques des denrées alimentaires : état de l'art. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 163(12), 595–614.
- Liaqati, I., Pervaiz, Q., Bukhsh, S. J., Ahmed, S., & Jahan, N. (2016). Investigation of Bactericidal Effects of Medicinal Plant Extracts on Clinical Isolates and Monitoring Their Biofilm Forming Potential. *Pakistan Veterinary Journal*, 36(2), 159–164.
- Lihua, L., Jianhuit, W., Jialini, Y., Yayin, L., & Guanxin, L. (2013). Effects of allicin on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and the production of quorum-sensing controlled virulence factors. *Polish Journal of Microbiology*, 62, 243e251. 243-251
- Lim, T. K. (2015). *Allium sativum* (Vol. 9). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9511-1>
- LIU, X. (2014). MEMBRANE RIGIDITY IN VEGETATIVE CELLS AND SPORES OF BACILLUS SPECIES. University of New Jersey, New Brunswick, New Jersey.
- Lorite, G.S., Rodrigues, C.M., Souza, A.A., Kranz, C., Mizaikoff, B., & Cotta, M.A. (2011). The role of conditioning film formation and surface chemical changes on *Xylella fastidiosa* adhesion and biofilm evolution. *J Colloid Interface Sci*, 359:289-95.
- Majed, R. (2017). Etude de Eps1 et Eps2, deux exopolysaccharides du biofilm chez *Bacillus thuringiensis*. UNIVERSITE SAINT-JOSEPH, BEYROUTH.
- Majed, R., Faille, C., Kallassy, M., & Gohar, M. (2016). *Bacillus cereus* Biofilms — Same, Only Different. *Frontiers in Microbiology*, 7(July), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01054>

## Références bibliographiques

- Malek, F., Boudjemaa, B. M., Aouar-Métri, A., & Kihal, M. (2013). Identification and genetic diversity of *Bacillus cereus* strains isolated from a pasteurized milk processing line in Algeria. *Dairy Science & Technology*, 93(1): 73-82.
- Mandez, L., & agunas, L. (2007). L'effet des conditions variables de séchage sur la cinétique de séchage et la qualité de l'ail. Thèse de Doctorat en science et technologie des aliments pour l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D). Université Laval.
- Marchand, S., De Block, J., De Jonghe, V., Coorevits, A., Heyndrickx, M., & Herman, L. (2012). Biofilm Formation in Milk Production and Processing Environments; Influence on Milk Quality and Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 133–147. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00183.x>
- Maria, L. d .C., & Evandro, L.(2012). Adhesion and biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food processing plants as affected by growth medium, surface type and incubation temperature *Journal of Pharmaceutical Sciences* ,4: 742.
- Marques, S. C., Rezende, J. G. O. S., Alves, L. A. F., Silva, B. C., Alves, E., Abreu, L. R., et al. (2007). Formation of biofilms by *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces and its resistance to some selected chemical sanitizers. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 538–543.
- Marrollo, R. (2016). Chapter 5 - *Bacillus cereus* Food-Borne Disease. In *The Diverse Faces of Bacillus Cereus*. [https://doi.org/10.1016/S0196-4399\(81\)80032-3](https://doi.org/10.1016/S0196-4399(81)80032-3)
- Martins, N., Petropoulos, S., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions : A review. *Food Chemistry*, 211, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.029>
- Mathur T., Singhal S. , Khan S., Upadhyay DJ., Fatma T., Rattan A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24 (1):25- 9



## Références bibliographiques

- Mathur, S., Gutte, M., Paul, D., & Udgire, M. (2013). Study the effect of essential oils on microbial biofilm formation by *Klebsiella pneumonia*. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 1(3), 76–79.
- Mazas, M., Gonzalez, I., Lopez, M., GONZÁLEZ, J., & Sarmiento, R. M. (1995). Effects of sporulation media and strain on thermal resistance of *Bacillus cereus* spores. *International journal of food science & technology*, 30(1), 71-78.
- Mckenney, P. T., Driks, A., & Eichenberger, P. (2013). The *Bacillus subtilis* endospore: Assembly and functions of the multilayered coat. *Nature Reviews Microbiology*, 11(1), 33–44. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2921>
- Meghrni, A., Nejma, M. Ben, Hentati, H., Mahjoub, A., & Mastouri, M. (2014). Microbial Pathogenesis Adhesive properties and extracellular enzymatic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from oral cavity. *Microbial Pathogenesis*, (May), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2014.05.002>
- Merzougui, S., Lkhider, M., & Cohe, N. (2013). *Bacillus cereus* , un réel problème pour l ' industrie agro alimentaire? *Bacillus cereus* , a real problem for food industry? ScienceLib Editions Mersenne, 5, 1–20.
- Mikaili, P., Maadirad, S., Moloudizargari, M., & Aghajanshakeri, S. (2013). Therapeutic Uses and Pharmacological Properties of Garlic , Shallot , and Their Biologically Active Compounds. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16, 1031–1048.
- Minker C. *Ail et autres alliées : un concentré de bienfaits pour votre santé, votre beauté et votre jardin*. Eyrolles. Paris: Eyrolles; 2012, 157p.
- Miron, T., Rabinkov, A., Mirelman, D., Wilchek, M., & Weiner, L. (2000). The mode of action of allicin: Its ready permeability through phospholipid membranes may contribute to its biological activity. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1463(1), 20–30. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(99\)00174-1](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(99)00174-1)
- Mohsenipour Z, Hassanshahian M, Moradi M. Investigations of antimicrobial activity of *Eucalyptus Camaldulensis* extracts against six pathogenic bacteria in planktonic form and biofilm. *J Kerman Uni Med Scien* 2015; 22(2):172-84.

## Références bibliographiques

- Mohsenipour, Z., & Hassanshahian, M. (2015). The Effects of *Allium sativum* Extracts on Biofilm Formation and Activities of Six Pathogenic Bacteria. *Jundishapur J Microbiol*, 8(8), 7. <https://doi.org/10.5812/jjm.18971v2>
- Morrison, B.H. (1994). The useful plants of west tropical Africa. Volume 2: Families EI. Royal Botanic Gardens.
- Muller A, & Guaguere E. (2014). L'Antibiothérapie n'est pas la seule source? d'antibiorésistance : notion de biofilm. *Conflits AFVAC. Médecine interne / maladies infectieuses*. Paris - la Défense.
- Musk, D. J., Banko, D. A., & Hergenrother, P. J. (2005). Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry and Biology*, 12(7), 789–796. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2005.05.007>
- Nagaveni, S., Rajeshwari, H., Oli, A. K., Patil, S. A., & Chandrakanth, R. K. (2010). Evaluation of Biofilm Forming Ability of the Multidrug Resistant *Pseudomonas Aeruginosa*. *The Bioscan*, 5(4), 563–566.
- Nam, H., Seo, H., Bang, J., Kim, H., Beuchat, L. R., & Ryu, J. (2014). International Journal of Food Microbiology Efficiency of gaseous chlorine dioxide in inactivating *Bacillus cereus* spores attached to and in a biofilm on stainless steel. *International Journal of Food Microbiology*, 188, 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.009>
- Nayak, N., Satpathy, G., Nag, H. L., Venkatesh, P., Ramakrishnan, S., Nag, T. C., & Prasad, S. (2011). Slime production is essential for the adherence of *Staphylococcus epidermidis* in implant-related infections. *Journal of Hospital Infection*, 77(2), 153–156. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.09.023>
- Nidadavolu, P., Amor, W., Tran, P. L., Dertien, J., Colmer-hamood, J. A., & Hamood, A. N. (2012). Garlic ointment inhibits biofilm formation by bacterial pathogens from burn wounds. *Journal of Medical Microbiology*, 61(June 2016), 662–671. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.038638-0>

## Références bibliographiques

- Niu C, & Gilbert ES. (2004). Colorimetric Method for Identifying Plant Essential Oil Components That Affect Biofilm Formation and Structure. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 6951–6956. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.6951>
- O’GARA, J. P., & HUMPHREYS, H. (2001). Staphylococcus epidermidis biofilms: importance and implications. *Journal of Medical Microbiology*, 50(7), 582–587. doi:10.1099/0022-1317-50-7-582
- O’Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for.pdf. *Molecular Microbiology* (1998), 30(2), 295–304.
- Ohsaki, Y., Koyano, S., Tachibana, M., Shibukawa, K., Kuroki, M., Yoshida, I., & Ito, Y. (2007). Undetected Bacillus pseudo-outbreak after renovation work in a teaching hospital. *Journal of Infection*. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.10.049>
- Oknin, H., Steinberg, D., & Shemesh, M. (2015). Magnesium ions mitigate biofilm formation of Bacillus species via downregulation of matrix genes expression. *Frontiers in Microbiology*, 6(September), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00907>
- Oliveria, K., Oliveira, T., Teixeira, P., Azeredo J., Henriques ,M.,& Oliveira ,R.( 2006). Comparison of the adhesion ability of different Salmonella Enteritidis Serotypes to materials used in Kitchens. *Journal of food Protection*, 69: 2352-2356.
- Otto, M. (2013). Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annu Rev Med*, 64:175-88
- Özdemir, F., & Arslan, S. (2018). Biofilm Production and Antimicrobial Susceptibility Profiles of Bacillus spp . from Meats. *JOURNAL OF SCIENCE E-ISSN:*, 22(6), 1674–1682. <https://doi.org/10.16984/saufenbilder.395016>
- Pakdel, F., Ghasemi, S., Babaloo, A., Javadzadeh, Y., Momeni, R., Ghanizadeh, M., ... Fathi, F. Y. (2017). Antibacterial effects of garlic extracts and ziziphora essential oil on bacteria associated with peri-implantitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(4), ZC16–ZC19. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/24786.9620>

## Références bibliographiques

- Pandey, R. (2014). Live-imaging of *Bacillus subtilis* spore germination and outgrowth. university of amsterdam.
- Papu, S., Jaivir, S., Sweta, S., & Singh, B. R. (2014). Medicinal values of Garlic ( *Allium sativum* L .) in Human Life : An Overview. *Greener Journal of Agricultural Sciences*, 4(July 2014), 265–280. <https://doi.org/10.15580/GJAS.2014.6.031914151>
- Paredes-Sabja, D., Setlow, P., & Sarker, M. R. (2011). Germination of spores of Bacillales and Clostridiales species: Mechanisms and proteins involved. *Trends in Microbiology*, 19(2), 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.10.004>
- Paytubi, S., Guirado, P. Balsalobre, C. & Madrid, C. (2014). An improved and versatile methodology to quantify biofilms formed on solid surfaces and exposed to the air–liquid interphase. *Journal of Microbiological Methods*, 103:77–79.
- Peng, J.-S., Tsai, W.-C., & Chou, C.-C. (2002). Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent. *International Journal of Food Microbiology*, 77(1–2), 11–18. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12076028>
- Pereira, A. P. M., & Sant’Ana, A. S. (2018). Trends in Food Science & Technology Diversity and fate of spore forming bacteria in cocoa powder , milk powder , starch and sugar during processing : A review. *Trends in Food Science & Technology*, 76(April), 101–118. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.005>
- Petrus, R. R., Loiola, C. G., & Oliveira, C. A. F. (2010). Microbiological shelf life of pasteurized milk in bottle and pouch. *Journal of Food Science*, 75(1), 36–40. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01443.x>
- Pierce C. G., P. Uppuluri, A R. Tristan, F.L. Wormley Jr., E. Mowat, G. Ramage, J L. Lopez-Ribot. 2008. A simple and reproducible 96 well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc*. 3: 1494–1500.
- Podkowik, M., Seok, K., Schubert, J., Tolo, I., Robinson, D. A., & Bania, J. (2016). International Journal of Food Microbiology Genotype and enterotoxigenicity of *Staphylococcus epidermidis* isolate from ready to eat meat products. *International*

## Références bibliographiques

- Journal of Food Microbiology, 229, 52–59.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.04.013>
- Pontieri, E. (2016). *Bacillus cereus* Group Diagnostics : Chromogenic Media and Molecular Tools. In *The Diverse Faces of Bacillus cereus*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801474-5.00002-5>
- Pratt, L. A., & Kolter, R. (1998). Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: Roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular Microbiology*, 30(2), 285–293. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.01061.x>
- Qian, Y., Lau ,S., Dahms,H.U., Dobretsov ,S., Harder,T., (2007). Marine biofilms as mediators of colonization by marine macroorganisms: Implications for antifouling and aquaculture. *Marine Biotechnology*, 9 : 399-410.
- Queiroga, M. C., Duartea, E. L., & Laranjo, M. (2018). Sheep mastitis *Staphylococcus epidermidis* biofilm effects on cell adhesion and inflammatory changes. *Small Ruminant Research*. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.09.009>
- Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., & Sintim, H. O. (2015). Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Medicinal Chemistry*, 7(4), 493–512. doi:10.4155/fmc.15.6
- Rai, N., Rai, R., & Venkatesh, K. V. (2015). Quorum sensing in competence and sporulation. In *Quorum Sensing vs Quorum Quenching: A Battle with no end in Sight*. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-1982-8\\_\\_6](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1982-8__6)
- Rajkovic, A., Uyttendaele, M., Vermeulen, A., Andjelkovic, M., Fitz-James, I., In't Veld, P., ... Debevere, J. (2008). Heat resistance of *Bacillus cereus* emetic toxin, cereulide. *Letters in Applied Microbiology*, 46, 536–541. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02350.x>
- Ramarao, N., & Sanchis, V. (2013). The Pore-Forming Haemolysins of *Bacillus Cereus*: A Review. *Toxins*, 1119–1139. <https://doi.org/10.3390/toxins5061119>

## Références bibliographiques

- Rasmussen, T. B., Bjarnsholt, T. S., Skindersoe, M. E., Hentzer, M., Kristoffersen, P., Ko' te, M., Nielsen, J., Eberl, L. & Givskov, M. (2005). Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI selector. *J Bacteriol* 187, 1799–1814.
- Ratthawongjirakul, P., & Thongkerd, V. (2015). Fresh garlic extract inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation under chemopreventive and chemotherapeutic conditions. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 38(4), 381–389.
- Reiter, J., Levina, N., Van Der Linden, M., Gruhlke, M., Martin, C., & Slusarenko, A. J. (2017). Diallylthiosulfinate (Allicin), a volatile antimicrobial from garlic (*Allium sativum*), kills human lung pathogenic bacteria, including MDR strains, as a vapor. *Molecules*, 22(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules22101711>
- Renner, L. D., & Weibel, D. B. (2011). Physicochemical regulation of biofilm formation. *MRS bulletin/Mater. Res. Society*, 365: 347–355.
- Rewatkar, A. R. (2013). *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*- Biofilm formation Methods. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 8(5), 36–40. <https://doi.org/10.9790/3008-0853640>
- Řezanka, T., Čejková, A., & Masák, J. (2012). Natural products: Strategic tools for modulation of biofilm formation. In *Studies in Natural Products Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59530-0.00010-1>
- Ripolles-Avila, C., Ríos-Castillo, A. G., & Rodríguez-Jerez, J. J. (2018). Development of a peroxide biodetector for a direct detection of biofilms produced by catalase-positive bacteria on food-contact surfaces. *CYTA - Journal of Food*. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1418434>
- Rossoni, E. M. M., & Gaylarde, C. 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(1), 81–85. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00369-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00369-X)

## Références bibliographiques

- Rubab, M., Olaimat, A. N., & Oh, D. (2018). Biosensors and Bioelectronics Biosensors for rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food. *Biosensors and Bioelectronics*, 105(January), 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.01.023>
- RYU, J.-H., & BEUCHAT, L. R. (2005). Biofilm Formation and Sporulation by *Bacillus cereus* on a Stainless Steel Surface and Subsequent Resistance of Vegetative Cells and Spores to Chlorine, Chlorine Dioxide, and a Peroxyacetic Acid–Based Sanitizer. *Journal of Food Protection*, 68(12), 2614–2622. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.12.2614>
- Sallam, K. I., Ishioroshi, M., & Samejima, K. (2004). Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT - Food Science and Technology*, 37(8), 849–855. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.04.001>
- Sánchez, Á., & Vázquez, C. (2012). Sesgos de atención selectiva como factor de mantenimiento y vulnerabilidad a la depresión: Una revisión crítica. *Terapia Psicológica*, 30(3), 103–117. <https://doi.org/10.4067/S0718-48082012000300010>
- Sanchez-Vizueté, P., Orgaz, B., Aymerich, S., Le Coq, D., & Briandet, R. (2015). Pathogens protection against the action of disinfectants in multispecies biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 6(JUN), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00705>
- Santhosha, S. G., Jamuna, P., & Prabhavathi, S. N. (2013). Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. *Food Bioscience*, 3, 59–74. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.07.001>
- Schwarz, S., Shen, J., Wendlandt, S., Feßler, A. T., Wang, Y., Kadlec, K., & Wu, C.-M. (2015). Plasmid-Mediated Antimicrobial Resistance in *Staphylococci* and Other Firmicutes. *Microbiology Spectrum*. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.plas-0020-2014>
- Sella, S. R. B. R., Vandenberghe, L. P. S., & Ricardo, C. (2014). Life cycle and spore resistance of spore-forming *Bacillus atrophaeus*. *Microbiological Research*, 169(12), 931–939. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.05.001>
- Senesi, S., & Ghelardi, E. (2010). Production, Secretion and Biological Activity of *Bacillus cereus* Enterotoxins. *Toxins*, 1690–1703. <https://doi.org/10.3390/toxins2071690>

## Références bibliographiques

- Senesi, S., Salvetti, S., Celandroni, F., & Ghelardi, E. (2010). Features of *Bacillus cereus* swarm cells. *Research in Microbiology*, 161(9), 743–749. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.10.007>
- Setlow, P. (2007). I will survive: DNA protection in bacterial spores. *Trends in Microbiology*, 15(4), 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.02.004>
- Setlow, P. (2013). Summer meeting 2013 – when the sleepers wake: the germination of spores of *Bacillus* species. *Journal of Applied Microbiology*, 1251–1268. <https://doi.org/10.1111/jam.12343>
- Setlow, P. (2014). The Germination of Spores of *Bacillus* Species: what we know and don't know. *American Society for Microbiology*, (January), 1–40. <https://doi.org/10.1128/JB.01455-13>
- Silva, S. S., Carvalho, J. W. P., Aires, C. P., & Nitschke, M. (2017). Disruption of *Staphylococcus aureus* biofilms using rhamnolipid biosurfactants. *Journal of Dairy Science*, 100(10), 7864–7873. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13012>
- Simões, M., Simões, L. C., & Vieira, M. J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 43(4), 573–583. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.12.008>
- Singh, R.P. M., Shukla, A., Mishra, C.R.K., Reddy, B., & Jha. (2013). Bacterial extracellular polymeric substances and their effect on settlement of zoospore of *Ulva fasciata*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103: 223-230.
- Soni, A., Oey, I., Silcock, P., Permina, E., & Bremer, P. J. (2019). Differential gene expression for investigation of the effect of germinants and heat activation to induce germination in *Bacillus cereus* spores. *Food Research International*, 119(August 2018), 462–468. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.041>
- Speziale, P., & Geoghegan, J. A. (2015). Biofilm formation by staphylococci and streptococci: structural, functional, and regulatory aspects and implications for pathogenesis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5(April), 2014–2015. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00031>



## Références bibliographiques

- Stavělíková, H. (2008). Morphological characteristics of garlic ( *Allium sativum* L .) genetic resources collection – Information. *Vegetables and Special Crops*, 2008(0002700602), 130–135.
- Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40(2), 175–179. doi:10.1016/s0167-7012(00)00122-6
- Stewart, P.S., & Franklin, M. (2008). Physiological heterogeneity in biofilms. *Nature review microbiology*, 6:199-210
- Storgårds, E., Tapani, K., Hartwall, P., Saleva, R., & Suihko, M.-L. (2006). Microbial Attachment and Biofilm Formation in Brewery Bottling Plants. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 64(1), 8–15. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-64-0008>
- Suleria, H. A. R., Butt, M. S., Khalid, N., Sultan, S., Raza, A., Aleem, M., & Abbas, M. (2015). Garlic (*Allium sativum*): Diet based therapy of 21st century-a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(4), 271–278. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60782-9](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60782-9)
- Sylla, Y. (2011). Nettoyage en place des lignes agro-industrielles : Etude Cinétique d'élimination des biofilms négatifs au sein des installations fermées dans les industries agroalimentaires. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement.
- Talukdar, P. K., Olguín-Araneda, V., Alnoman, M., Paredes-Sabja, D., & Sarker, M. R. (2015). Updates on the sporulation process in *Clostridium* species. In *Research in Microbiology* (Vol. 166). <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.12.001>
- Tang, Y ;Liu,D ; Schwartzman, J ; Sussman, M ; Poxton, I. (2015). *Molecular Medical Microbiology* (2eme Edition ed.p. 1-2216). New York, USA: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, Weill Medical College of Cornell University.
- Tauveron, G., Slomianny, C., Henry, C., & Faille, C. (2006). Variability among *Bacillus cereus* strains in spore surface properties and influence on their ability to contaminate food surface equipment. *International Journal of Food Microbiology*, 110(3), 254–262. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.027>

## Références bibliographiques

- Thwaite, J.E; Atkins, H.S. (2012). Medical Microbiology .Eighteenth Edition. Churchill Livingstone, pp Pages 237-244.
- Tilahun, A., Haddis, S., Teshale, A., & Hadush, T. (2016). Review on Biofilm and Microbial Adhesion. International Journal of Microbiological Research, 7(3), 63–73. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijmr.2016.63.73>
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clinical Microbiology Reviews, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- Torlak, E., Korkut, E., & Uncu, A. T. (2017). Article in press. Journal of Infection and Public Health Journal, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.01.004>
- 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.
- Wang, L., Xia, Q., & Li, Y. (2017). The effects of high-pressure processing and slightly acidic electrolysed water on the structure of Bacillus cereus spores. Food Control, 79, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.036>
- Warner, S. J., Uppstrom, T. J., Miller, A. O., O'Brien, S. T., Salvatore, C. M., Widmann, R. F., & Perlman, S. L. (2017). Epidemiology of deep surgical site infections after pediatric spinal fusion surgery. Spine, 42(3), E163–E168. <https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000001735>
- Watkins, R. R., David, M. Z., & Salata, R. A. (2012). Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Journal of Medical Microbiology, 61(PART 9), 1179–1193. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.043513-0>
- Wu, G., Farouk, M. M., Clerens, S., & Rosenvold, K. (2014). Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. Meat Science, 98(4), 637–645. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.010>

## Références bibliographiques

- Wu, X., Santos, R. R., & Fink-gremmels, J. (2015). Analyzing the antibacterial effects of food ingredients : model experiments with allicin and garlic extracts on biofilm formation and viability of *Staphylococcus epidermidis*. *Food Science & Nutrition*, 3(2), 158–168. <https://doi.org/10.1002/fsn3.199>
- Xu, Z., Xie, J., Soteyome, T., Peters, B. M., Shirtliff, M. E., Liu, J., & Harro, J. M. (2019). ScienceDirect Polymicrobial interaction and biofilms between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* : an underestimated concern in food safety. *Current Opinion in Food Science*, 26, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.006>
- Yoshinari, M., Kato, T., Matsuzaka, K., Hayakawa, T., & Shiba, K. (2010). Prevention of biofilm formation ontitanium surfaces modified with conjugated molecules comprised of antimicrobial and titanium-bindingpeptides. *Biofouling*, 26:103-10.
- Zhou, K. X., Wisnivesky, F., Wilson, D. I., & Christie, G. (2017). Effects of culture conditions on the size, morphology and wet density of spores of *Bacillus cereus* 569 and *Bacillus megaterium* QM B1551. *Applied Microbiology*, 50–56. <https://doi.org/10.1111/lam.12745>

## Les annexes

### 1) Préparation de la gélose au Rouge Congo :

- 37 g/l bouillon BHI.
- 50 g /l saccharose.
- 10 g /l agar bacteriologique.
- 0,8g/l Rouge Congo.

### Préparation de gélose fortifiée :

GN+50ml /l Mn So<sub>4</sub>+60mg /l Ca cl<sub>2</sub>.

### 2) Préparation des milieux:

#### - BHIB à 0,25% glucose :

- Peptone de caséine : 17g.
- Peptone de soja : 3g.
- Na cl : 5g.
- Phosphate di potassique : 2.5g
- Glucose : 2.5g.

#### -PBS (phosphate buffer saline)

- Nacl : 7,6g.
- Kcl : 0,2g.
- K<sub>2</sub>Hpo<sub>4</sub> :0,71g.
- Na<sub>2</sub>Hpo<sub>4</sub> :0,24.

#### - BHIB à 0, 5% glucose : (Le même milieu additionné de 2,5g glucose)

## ملخص

وتشكيل الأغشية الحيوية على أسطح المعدات الصناعية ، إنها تمثل مشكلة عالمية للصحة العامة و هي من المصادر المسببة لإتلاف المعدات الصناعية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم قدرة تكوين الأغشية الحيوية بواسطة هذه البكتيريا المعزولة من لحم الدجاج النيئ ومن دونر كباب المسوقة في منطقة تلمسان ، من ناحية. و من ناحية أخرى ، اختبار تأثير الثوم *allium sativium* على الأغشية الحيوية الناضجة التي تشكلها هذه البكتيريا على أسطح الفولاذ المقاوم للصدأ. إن إمكانات السلالات التي تم اختبارها لتشكيل الأغشية الحيوية عن طريق تقنية الصفائح المجهرية للمعايرة، ونظام الفولاذ المقاوم للصدأ وتقنية الوسط الصلب احمر كونغو متغيرة خاصة بالنسبة ل *Bacillus cereus* التي أظهرت قدرة منخفضة للغاية لتشكيل الأغشية الحيوية. سلالات *Staphylococcus aureus* (100% حسب تقنية الصفائح المجهرية للمعايرة ، 27.27% حسب تقنية الوسط الصلب احمر كونغو و أسطح الفولاذ المقاوم للصدأ ). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها باستخدام الثوم أن الأغشية الحيوية التي تشكلها *staphylococcus aureus* انخفضت عند جميع التركيزات المستعملة (1 و 2 و 3٪) وجميع أوقات التلامس مع الثوم. كما أظهرت النتائج أن تقليل الغشاء الحيوي يزداد مع التركيز ومدة التلامس مع الثوم.

**الكلمات المفتاحية :** *Bacillus cereus*, *staphylococcus aureus*, الأغشية الحيوية, الثوم.

## Abstract

*Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* are important contaminants in the food industry, they have the ability to adhere and form biofilms on the surfaces of food equipment, This represents a risk to public health and to the alteration of materials. The aim of this study was to evaluate the ability of biofilms formation by bacteria isolated from raw chicken meat and Doner Kebab marketed in the region of Tlemcen, on the one hand. On the other hand, test the effect of garlic *allium sativum* on mature biofilms formed by these bacteria on stainless steel surfaces. The potential of strains to form biofilms tested by the PVC microtiter plates technique, on stainless steel surfaces and the Congo red agar technique is variable. Especially for *Bacillus cereus* which has shown a very low capacity for biofilm formation. Strains of *Staphylococcus aureus* (100% on PVC titration microplates, 27.27% on stainless steel surfaces and the Congo red agar technique). The results obtained after treatment with *Allium sativum* show that the biofilms formed by *Staphylococcus aureus* were reduced for all the concentrations (1, 2 et 3%) and all the contact times with the garlic. The results also show that biofilm reduction increases with concentration and processing time.

**Key words:** *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, biofilm, garlic *allium sativum*.

## Résumé :

*Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* sont des contaminants importants en industrie agroalimentaire. Ils ont la capacité d'adhérer et de former des biofilms sur les surfaces des équipements agroalimentaires. Cela représente un risque pour la santé publique et pour l'altération des matériaux. Le but de cette étude est d'évaluer la capacité de formation des biofilms par des bactéries isolées à partir de la viande de poulet cru et du Doner Kebab commercialisés dans la région de Tlemcen, d'une part. D'autre part, tester l'effet de l'ail *allium sativum* sur des biofilms matures formés par ces bactéries sur des surfaces en acier inoxydable. Le potentiel des souches testées à former des biofilms par la technique des microplaques de titration en PVC, sur des surfaces en acier inoxydable et par la technique de gélose au Rouge Congo est variable, notamment pour *Bacillus cereus* qui a montré une très faible capacité de formation de biofilm. Les souches des *Staphylococcus aureus* (100% sur les microplaques de titration en PVC, 27.27% sur les surfaces en acier inoxydable et la technique de gélose au Rouge Congo). Les résultats obtenus après traitement avec *allium sativum* montrent que les biofilms formés par *Staphylococcus aureus* ont été réduits pour toutes les concentrations (1, 2 et 3%) et tous les temps de contact avec l'ail. Les résultats montrent également que la réduction du biofilm augmente avec la concentration et le temps de traitement.

**Mots clé :** *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, biofilm, l'ail *allium sativum*.

