

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

« LAMAABE »

MEMOIRE

Présenté par

Derras Manel Leila

Hameza Cherif Fadia

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie Fondamentale

Thème

Effet du cumin (*cuminum cyminum*) sur la formation du biofilm de *Staphylococcus aureus* isolé de la viande de poulet

Soutenu le 21/09/2020 devant le jury composé de :

Président	BARKA Mohamed Salih	MCA	Université Tlemcen
Examinatrice	BENDIMERED Nahida	MCB	Université Tlemcen
Promoteur	CHERIF-ANNTAR Asma	MCB	Université Tlemcen

Année universitaire 2019-2020

Remerciement :

On tient à adresser nos sincères et chaleureux remerciements à notre encadreur, **Dr. CHERIF-ANNTAR Asma**, enseignante à l'Université de Tlemcen.

Merci pour votre disponibilité, votre gentillesse, votre patience, votre précieux conseil, et votre orientation qui nous a témoignée pour nous permettre de mener à bien ce travail.

Nos sincères remerciements à **Dr. BARKA Mohamed Salih**, enseignant à l'Université de Tlemcen d'avoir accepté de présider le jury.

Nos respectueux dévouements vont également à **Dr. BENDIMERED Nahida**, enseignante à l'Université de Tlemcen qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.

Dédicace :

De la part de Fadía

Je dédie ce travail A la flamme qui éclaire ma vie et me guidé vers le droit chemin, à Ma très chère mère et à mon très cher père, pour son soutien sans limite Sa patience et ses sacrifices.

A ma très chère mère pour ton soutien et ton réconfort pendant toutes ces années d'études. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, Je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon très cher père, Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A mes sœurs.

A toute ma famille et ma belle-famille surtout à mes oncles.

Et enfin, à tous ceux que ma réussite leur tient à cœur.

De la part de Manel

Tout d'abord je remercie le bon Dieu pour la patience et la santé qui m'a donné pour réaliser et terminé mon parcours.

Je dédie A :

Ma très chère maman, mon idole qui ma soutenue tout le long de mon parcours, merci pour ton amour, tes conseils ainsi que ton soutien inconditionnel, à la fois moral et économique, qui m'a permis de réaliser les études que je voulais et par conséquent ce mémoire.

A mon cher père, merci de m'avoir encouragé, d'être fière de moi, et d'être toujours à mes coté.

A ma petite cousine, mes deux frères, mes copines « Amel & Ikram » qui sont des vraies sœurs pour moi et tous mes proches qui ont été toujours près de moi.

ملخص :

تشكل البكتيريا طبيعياً هياكل معقدة تسمى الأغشية الحيوية لتحمي نفسها ضد الاعتداءات البيئية مثل المطهرات والمنظفات والظروف البيئية المعاكسة. يمر تكوين هذه الهياكل بمراحل تسبب تغيرات نمطية في الخلايا البكتيرية ويعتمد تشكلها على عوامل مثل الأكسجين ، درجة الحرارة ، الخصائص الخارجية ، السطحية والكائنات الحية الدقيقة.

عادة تسبب الأغشية الحيوية مشاكل اقتصادية وصحية في صناعة الأغذية وتؤثر على صحة الإنسان ، ولهذا يجب القضاء على هذه المجتمعات بأساليب جديدة لأن استراتيجيات الكلاسيكية المستخدمة حالياً والتي لا تزال قيد التطوير ، غير قادرة على القضاء عليها بسبب مقاومتها العالية لهذه الإستراتيجيات . و من بين الأغشية الحيوية الأكثر تواجد على اسطح العمل المختلفة و التي تستخدم على نطاق واسع في المنشآت الصناعية مثل البوليسترين ، البولي ، بروبيلين والفولاذ المقاوم للصدأ والزجاج ، الأغشية المشكلة من قبل *Staphylococcus aureus*.

هذه البكتيريا شديدة المقاومة وتنتج العديد من عوامل الخطر مثل السموم المعوية والسموم المقشرة وجزيئات الالتصاق . والتي تسمى MSCRAMM. هذه الجزيئات تساعد البكتيريا على الاستعمار و تشكيل الأغشية الحيوية الخاص بها .

تعتمد البحوث اليوم على استخدام العمليات الطبيعية لمنع وتدمير هذه الهياكل مثل استخدام البكتريوسينات والبكتريوفاجات والأنزيمات والمواد الثانوية التي تنتجها النباتات. وفقاً لنتائج فازكيز سنشيز و نتائج والميكي و ري ، نستطيع القول أن

تأثير الزيوت الأساسية تختلف من نبتة الى اخرى ، وان *Cuminum cyminum* نبتة تآثر على مجتمعات

Staphylococcus aureus بتركيزات دقيقة و لكنها غير قادرة على القضاء عليها تماماً لهذا يجب منع تشكل هذه

الأغشية الحيوية بدلا من استئصالها بعد تكونها .

الكلمات المفتاحية : الأغشية الحيوية ، *Cuminum cyminum* ، *Staphylococcus aureus* ، الزيوت الأساسية.

Résumé

Les bactéries forment naturellement des structures complexes appelées biofilm pour se protéger contre les agrégations environnementales comme la désinfection, nettoyage et les conditions d'environnements défavorables. La formation de ces structures passe par des étapes provoquant des modifications phénotypiques aux cellules planctoniques et leur installation dépend de plusieurs facteurs tels que le pH, la température, l'oxygène et les propriétés des surfaces et des microorganismes.

Le biofilm cause des problèmes économiques et sanitaires dans l'industrie alimentaire et sur la santé humaine, c'est pour cela qu'il faut éradiquer ces communautés par de nouvelles méthodes, car actuellement les stratégies de contrôle classiques utilisées et qui sont encore en cours d'élaboration, sont incapables d'éliminer les biofilms en raison de leur résistance élevée à ces procédés classiques. Parmi les biofilms les plus répandues, le biofilm de *Staphylococcus aureus* sur diverses surfaces de travail largement utilisées dans les installations industrielles comme le polystyrène, le polypropylène, l'acier inoxydable et le verre. Cette bactérie est très résistante et produit plusieurs facteurs de virulence comme les entérotoxines, toxines exfoliantes et des molécules d'adhésions qui sont appelées MSCRAMM. Ces MSCRAMM aident la bactérie à coloniser et former leur biofilm.

Les recherches aujourd'hui sont basées sur l'utilisation des procédés naturels pour prévenir et détruire le biofilm comme l'utilisation des bactériocines, des bactériophages, des enzymes et les métabolites secondaires des plantes. Selon les résultats de Vazquez-Sanchez et de Walmiki et Rai, on peut dire que l'effet des huiles essentielles se diffère d'une plante à une autre et que *Cuminum cyminum* possède une efficacité sur le biofilm de *Staphylococcus aureus* à des concentrations précises mais elle est incapable de l'éliminer complètement, donc il faut prévenir l'installation de ces biofilms au lieu d'essayer de les éradiquer après leur formation.

Mots clés : Biofilm, *Staphylococcus aureus*, *Cuminum cyminum*, huiles essentielles.

Abstract:

Bacteria naturally form complex structures called biofilms to protect itself from the environmental aggregations like disinfection, cleaning, and unfavorable environmental conditions. The formation of these structures goes through several steps leading to phenotypic modifications of the planktonic cells, and their settlement will depend on various factors such as pH, Temperature, oxygen and surfaces properties and microorganisms.

The biofilm causes economic and sanitary problems in food industry and on human's health, which is why we need to eradicate these communities using new methods, because the current control classic methods used, and which are still in process of elaboration, are incapable of exterminating them due to their high resistance to these processes. Among the most spread biofilms, the *Staphylococcus aureus* biofilm that is found on diverse working surfaces used widely in industrial installations such as polystyrene, polypropylene, stainless steel, and glass. This bacterium is very resistant and produces many virulence factors like enterotoxins, exfoliant toxins and adhesion molecules called MSCRAMM. These molecules help the bacteria to colonise and from their biofilms.

Today's research is based on the use of natural processes to prevent and destroy the biofilm like the use of bacteriocins, bacteriophages, enzymes, and plants secondary metabolites. According to the results of Vazquez-Sanchez and Walmiki and Rai, we can say that the effect of essential oils differs from a plant to another, and that *Cuminum cyminum* possesses a good efficiency on the *S. aureus* biofilms following precise concentrations, but are still incapable of destroying it completely, therefor we need to prevent the settlement of the biofilm from the beginning instead of trying to destroy it after.

Key words: biofilm, *Staphylococcus aureus*, *Cuminum cyminum*, essential oils.

Liste des abréviations :

% : pourcentage.

µm : micromètre.

µl : microlitre.

Aap : accumulation associated protein.

ADN : acide désoxyribonucléique.

AHL : Lactone acyle homosérine.

AI : Auto inducteurs.

B1 : vitamine appelée aussi vitamine thiamine.

B3 : vitamine appelée aussi vitamine PP ou niacine.

BAP : protéines associées à un biofilm.

BHI : Bouillon cœur cervelle.

°C : L'unité de température Celsius.

CO : Dioxyde de carbone.

cm : centimètre.

DO : Densité optique.

E : vitamine E ou tocophérol.

é : électrons.

Empb : Extracellulaire matrix binding protein.

EPS : Les exopolysaccharides.

ET : Toxine exfoliante.

GC : chromatographie en phase gazeuse.

h : Heur.

HE : l'huile essentielle.

K : vitamine K.

LPV : leucocidine de Panton-Valentine

Mb : millions de paires de bases.

mg : milligramme.

min : minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

MS : spectrométrie de masse.

MSCRAMM : Microbial Surface Coponents-Recognising Adhesive Matrix Molecule.

MTCC : Centre de collection de culture microbienne.

Na Cl : Chlorure de sodium.

NaClO : hypochlorite de sodium.

nm : nanomètre.

O₂ : oxygène.

PBS : Solution saline aux phosphates.

PCR : réaction de polymérisation en chaîne

pH : potentiel hydrogène

PIA : adhésine polysaccharides intercellulaire.

QS : quorum sensing

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

TSA : Gélose de soja tryptone.

TSB : bouillionsde soja tryptone.

UFC : Unité formant colonie.

UI : l'unité internationale utilisée pour mesurer la quantité d'une substance.

Liste des figures :

Figure 1 : Représentation schématique des étapes de formation de biofilm.....	7
Figures 2 : Principaux facteurs affectant la formation de biofilm.....	8
Figure 3 : Colonies de <i>S. aureus</i> après coloration de Gram sous microscope électronique...15	
Figure 4 : Aspects cultureux de <i>S. aureus</i> sur différents milieux de cultures.....	14
Figure 5 : Image microscopie électronique du biofilm des <i>Staphylococcus aureus</i> (4252 2890 2 MB JPG)	19
Figure 6 : Représentation de la plante de cumin <i>Cuminum cyminum</i>	21
Figure 7 : Photo des grains de cumin utilisé dans cette étude.....	26
Figure 8 : Le système d'acier inoxydable utilisé pour la formation des biofilms	27

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Classification du <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Tableau 2 : Caractères biochimiques et culturels de <i>S. aureus</i>	16
Tableau 3 : Position systématique.....	21

Table de matière :

Introduction générale	1
Partie I : Synthèse bibliographique	3
Chapitre 1 : Les biofilms en agroalimentaire	4
1.1. Historique	4
1.2. Définition de biofilm	4
1.3. Les étapes de formation de biofilm	5
1.3.1. Le conditionnement de la surface	5
1.3.2. L'adhésion bactérienne	5
1.3.4. Maturation du biofilm.....	6
1.3.5. Détachement et dispersion du biofilm	6
1.4. Facteur influencent la formation de biofilm dans l'industrie agroalimentaire	7
1.4.1. Propriétés de surface.....	8
1.4.2. Les facteurs environnementaux	8
1.4.2.1. La température	8
1.4.2.2. Le pH	9
1.4.2.3. L'oxygène	9
1.4.2.4. L'hydrodynamique	9
1.4.2.5. La composition du film de conditionnement	9
1.4.3. Les propriétés des microorganismes	10
1.4.3.1. Le quorum sensing	10
1.5. Problèmes liés aux biofilms en industrie agroalimentaire	10
1.6. Méthodes d'élimination de biofilm	11

1.6.1. Méthodes chimiques	11
1.6.2. Méthodes physiques	11
1.6.3. Conception du matériel des équipements	12
1.6.4. Bactériophages	12
1.6.5. Bactériocines	12
1.6.6. Inhibition de QS	12
1.6.7. Traitement par les extraits de plantes	13
1.6.8. Utilisation des enzymes	13
Chapitre 2 : Généralité sur <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.1. Historique et taxonomie	14
2.2. Description	14
2.3. Habitat	15
2.4. Caractères biochimiques et cultureux	15
2.6. Les facteurs et mécanisme de virulence	17
2.6.1. Molécule d'adhésion	17
2.6.2. Entérotoxine	18
2.7. Les biofilms à Staphylocoques	18
Chapitre 3 : Généralités sur le cumin « <i>Cuminum cyminum</i> »	20
3.1. Définition du cumin « <i>Cuminum cyminum</i> »	20
3.2. Description et taxonomie du cumin « <i>Cuminum cyminum</i> »	20
3.4. La composition chimique du cumin « <i>Cuminum cyminum</i> »	22
3.5. Molécules actives et effets antimicrobiens du cumin « <i>Cuminum cyminum</i> ».....	22
Partie II : Matériel et méthodes	24
1. Revivification des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	25

2. Observation microscopique.....	25
3. Conservation sur gélose incliné.....	25
4. Préparation de l'extrait de cumin.....	25
5. Effet du cumin sur le biofilm de <i>staphylococcus aureus</i>	26
5.1. Développement du biofilm mono-espèce à <i>Staphylococcus aureus</i>	26
5.1.1. Préparation du système.....	26
5.1.2. Préparation de suspension bactérienne.....	27
5.1.3. Développement du biofilm.....	27
5.1.4. Traitement du biofilm.....	27
5.1.5. Dénombrement.....	27
Partie III : Analyse d'articles.....	29
Conclusion générale.....	34
Références bibliographiques.....	35

Introduction générale :

Les microorganismes se trouvent dans tous types d'environnement sous forme de cellules libres ou sous forme de communautés fixées sur des surfaces biotiques ou abiotiques, entourées par une matrice autoproduite constituée principalement par des protéines, des polysaccharides et des acides nucléiques. Ces communautés appelées biofilm provoquent plusieurs problèmes graves dans les industries alimentaires grâce à leur capacité de résister aux désinfectants et aux produits antimicrobiens ce qui augmente leur probabilité de survie et de contaminer les aliments (Kuddus, 2019 ; Phillips, 2016 ; Curcic-Trajkovska, 2015 ; García-Gonzalo et Pagán, 2015).

La plupart des bactéries sont capables d'adhérer, de coloniser et par conséquent former des biofilms sur des surfaces des matériaux dans l'industrie agroalimentaire (Almeida *et al.*, 2017 ; Cherif-Antar *et al.*, 2016 ; Lima *et al.*, 2015). Parmi ces bactéries, *Staphylococcus aureus* une bactérie opportuniste à coagulase positive est connue par sa capacité à s'adhérer et former des biofilms. Une fois formés, ces biofilms provoquent l'augmentation de sa résistance ce qui rend difficile son éradication par les procédés conventionnels qui détruisent les micro-organismes (Kuddus, 2019 ; Shan su *et al.*, 2019 ; Bhunia, 2018 ; Fetsh, 2018 ; Grare, 2016 ; Bose et Bye, 2013).

Les épices et les herbes sont des ingrédients courants ajoutés aux aliments pour améliorer le goût et la couleur. En outre, ils constituent de bonnes sources d'agents antioxydants et antimicrobiens (Abraham et Paridhavi, 2013). Les huiles essentielles d'épices et d'herbes ont été recommandées pour les produits à base de viande et de poisson afin de prolonger la durée de conservation, de protéger la qualité organoleptique et d'inhiber la croissance microbienne et l'oxydation des lipides (Bobbarala *et al.*, 2012).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet du cumin *Cuminum cyminum* sur des biofilms mono-espèces âgés formés sur des surfaces en acier inoxydable par *Staphylococcus aureus* isolée du Döner Kebab prêt à manger commercialisée dans la région de Tlemcen. Différentes concentrations du cumin ainsi que différents temps de traitement sont envisagés dans cette étude.

Le présent mémoire est structuré comme suit :

La première partie est une synthèse bibliographique consacrée aux généralités sur les biofilms en agroalimentaire, ainsi qu'un chapitre sur *Staphylococcus aureus* et un autre sur le cumin *Cuminum cyminum*.

La seconde partie présente la méthodologie à réaliser.

La troisième et dernière partie est consacrée au traitement de deux articles sur l'effet des huiles essentielles de *Cuminum cyminum* sur un biofilm formé par *Staphylococcus aureus*.

Une conclusion pour clôturer l'ensemble du travail.



Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Les biofilms en agroalimentaire

1.1. Historique :

La première observation de biofilm microbien a été faite par Antonie Van Leeuwenhoek en 1684 à l'aide d'un microscope optique primitive. Il a observé une adhérence microbienne sur les surfaces dentaires qui forment une communauté sessile (**Bevilacqua et al., 2017 ; Tezel et Şanlıbaba, 2017 ; Shi et Zhu, 2009 ; Leeuwenhoek, 1648**).

Après quelques siècles, et plus exactement en 1920, le biofilm bactérien a été observé à travers des bactéries marines attachées à la coque des navires (**Shi et Zhu, 2009**). Claude E. Zobell a déterminé que certaines bactéries marines peuvent s'accrocher sur les surfaces des lames en verre, tout en formant des microcolonies alors que ces dernières n'ont pas été détachées par lavage (**Tezel et Şanlıbaba, 2017 ; Zobell et Eshter, 1935**).

Soixante ans plus tard, des observations de bactéries fixées sur des surfaces solides dans de nombreux environnements écologiques comme : les systèmes de traitement des eaux usées, les équipements utilisés pour la fabrication du vinaigre, les systèmes d'eau industrielle, les caries dentaires, les voies urinaires, ainsi que d'autres dispositifs médicaux implantés sont réalisées à l'aide des techniques de microscopiques développées (**Bevilacqua et al., 2017 ; Shi et Zhu, 2009 ; Zottola et Sasahara, 1994**).

Dans les milieux naturels, 95% à 99% des micro-organismes ont adapté ce mode de vie vu les multiples avantages offerts (**Almeida et al., 2017 ; Peng et al., 2002**).

1.2. Définition du biofilm :

Le biofilm est décrit comme un assemblage de cellules microbiennes fixées sur les surfaces biotique ou abiotique et immergé dans une matrice extracellulaire autoproduite et qui se diffère selon l'environnement et l'espèce colonisatrice (**Kuddus, 2019 ; Galié et al., 2018 ; Tazal et Şanlıbaba, 2017 ; Phillips, 2016 ; Meyer, 2015 ; Sauer et al., 2007 ; Donlan et Costerton, 2002**). Un biofilm peut comprendre une et/ou plusieurs espèces bactériennes. Il peut former une couche unique ou des structures tridimensionnelles (**Galié et al., 2018 ; Bevilacqua et al., 2017 ; Parsek et Singh, 2003**).

La matrice extracellulaire est composée principalement de protéines, de polysaccharides et d'ADN exogène. Elle possède un rôle structural vis à vie de la persistance du biofilm. Elle génère des gradients complexes en oxygène et en éléments nutritifs, des enzymes extracellulaires utilisées pour le transfert de molécules de communication cellulaire d'un côté et à des fins nutritionnelles, d'un autre côté. La matrice confère aux bactéries incorporées une protection contre des environnements hostiles incluant les agents antimicrobiens (Galié *et al.*, 2017 ; Almeida *et al.*, 2017 ; Flemming *et al.*, 2016 ; Kasnowski *et al.*, 2010).

1.3. Les étapes de formation de biofilm :

Différents mécanismes sont utilisés par les micro-organismes à venir en contact étroit avec une surface, s'attacher fermement à elle, favoriser les interactions entre elles et se développer sous forme de structures complexes appelées biofilms (Kuddus, 2019 ; Lima *et al.*, 2015 ; Bryers et Ratner, 2004). La formation de ce dernier est un processus progressif et dynamique qui se déroule en plusieurs étapes qui sont décrites ci-dessous et schématisées dans la figure 1 tout en provoquant des modifications phénotypiques des cellules planctoniques (Almeida, 2017 ; García-Gonzalo et Pagán, 2015 ; Guobjornsdottir *et al.*, 2005) :

1.3.1. Le conditionnement de la surface : Le film de conditionnement constitue une base riche en substrats favorables pour la croissance microbienne. Il peut être composé de plusieurs particules organiques ou inorganiques présentes dans le milieu environnant tout en stimulant l'accessibilité et l'attachement des bactéries sur les surfaces (Gautam *et al.*, 2013 ; Garret *et al.*, 2008). Ce processus de conditionnement est régulé par des facteurs tels que la nature des matériaux, la tension de surface, la mobilité électrostatique, la rugosité et la mobilité de la surface (Jamal, 2015 ; Curcic, 2015 ; Gautam *et al.*, 2013).

1.3.2. L'adhésion bactérienne : Au départ, les microorganismes sont attachés réversiblement à la couche de conditionnement. Ce procédé de fixation est entraîné soit par des forces physiques (Ashraf *et al.*, 2001) comme la force du flux et la gravitation, ou par des flagelles (Garret *et al.*, 2008). À ce stade, les forces physiques sont attribuées à la charge de surface, les interactions stériques, les faibles forces de Van der Waals et les forces électrostatiques entre les molécules en interaction (Douarche *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2011). Une fois adhérentes aux supports, les bactéries déclenchent des modifications physiologiques qui vont accompagner la transition à une adhésion irréversible (Jamal, 2015 ; Stoodley *et al.*, 2002).

Les structures de surface, tels que des pilis de type VI interviennent dans ce mécanisme (Conrad, 2012).

1.3.4. Maturation du biofilm : Une fois adhérents d'une façon irréversible, les bactéries forment des microcolonies considérées comme forme unitaire et élémentaire d'un biofilm (Donlan et Costerton, 2002). La maturation est enclenchée lorsque les microcolonies atteignent une quantité de biomasse qui génère une hétérogénéité importante au sein du biofilm (Stewart et Franklin, 2008).

D'autre part, les bactéries synthétisent un exopolysaccharide et d'autres constituants de la matrice polymérique permettant ainsi leur protection de tout type de stress environnemental (Sheng et Li, 2010). Cette matrice a également un rôle majeur dans le maintien et la stabilisation de la structure de biofilm en trois dimensions par la liaison des bactéries entre elles et avec le support (Jamal, 2015 ; Flemming et Wingender, 2010 ; Dunne, 2002). Au sein de la matrice des canaux servant à la diffusion de l'eau, des gaz, des nutriments et des déchets sont présents donnant aux biofilms une architecture complexe (Vanzieleghem et Delmée, 2020 ; Beyenal et Lewandowski, 2000).

Face à tous ces changements, les bactéries développent des stratégies d'adaptation et deviennent persistantes avec une tolérance très élevée aux désinfectants et aux antibiotiques (Vanzieleghem et Delmée, 2019 ; Bester *et al.*, 2010).

Les microcolonies vont sécréter de nombreux médiateurs bactériens pour faciliter la coordination cellulaire en fonction du microenvironnement et de la densité cellulaire : ce mécanisme est appelé le « quorum sensing » (Grare, 2016).

1.3.5. Détachement et dispersion du biofilm : La dernière phase du cycle de vie du biofilm est le détachement des parties et leur dispersion dans le milieu. Ce phénomène permet aux cellules sessiles d'adhérer et de coloniser de nouvelles surfaces ou retourner à l'état planctonique. (Arciola *et al.*, 2005).

Le détachement du biofilm est le résultat de plusieurs paramètres environnementaux devenus défavorables incluant la limitation dans la disponibilité des nutriments (Lars *et al.*, 2011), l'appauvrissement en oxygène qui conduit à une croissance lente des bactéries ce qui provoque une diminution de l'énergie nécessaire pour maintenir l'attachement cellulaire (Anderson et O'Toole, 2008), les perturbations mécaniques (force de cisaillement, abrasion)

et d'autre condition de stress qui favorisent l'expression des gènes impliqués dans la dispersion (Lars *et al.*, 2011).

le mécanisme majeur utilisé par *staphylococcus aureus* est la production des enzymes et des surfactants qui dégradent la matrice polysaccharidique, on compte 10 protéases dont 7 sérine protéase, 2 cystéine protéase et 1 métallo protéase (Goetz *et al.*, 2016).

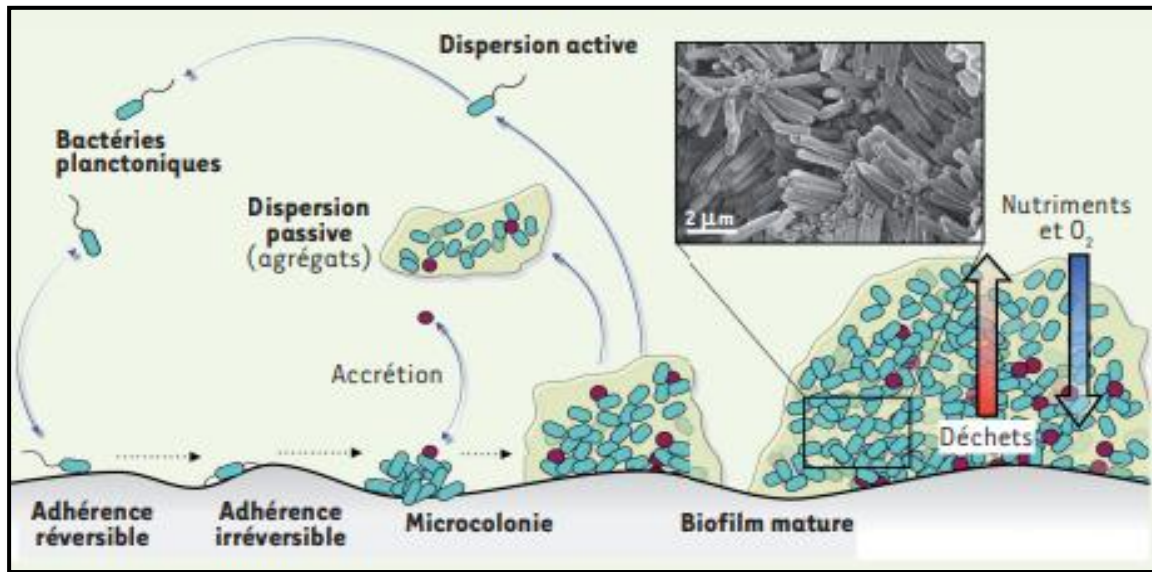


Figure 1 : Représentation schématique des étapes de formation de biofilm (Lebeaux et Ghigo, 2012)

1.4. Facteur influencent la formation de biofilm dans l'industrie agroalimentaire :

Les biofilms ont été détectés dans plusieurs industries agroalimentaires y compris l'industrie laitière, l'industrie de viande et de volaille et l'industrie de transformation du poisson. Plusieurs facteurs influencent la formation et le développement des biofilms dans de tel environnement. Ces facteurs sont liés à l'espèce microbienne, aux conditions environnementales et à la nature des surfaces qui sont décrits ci-dessous et schématisés dans la figure 2 (Bevilacqua *et al.*, 2017 ; Guobjornsdottir *et al.*, 2005).

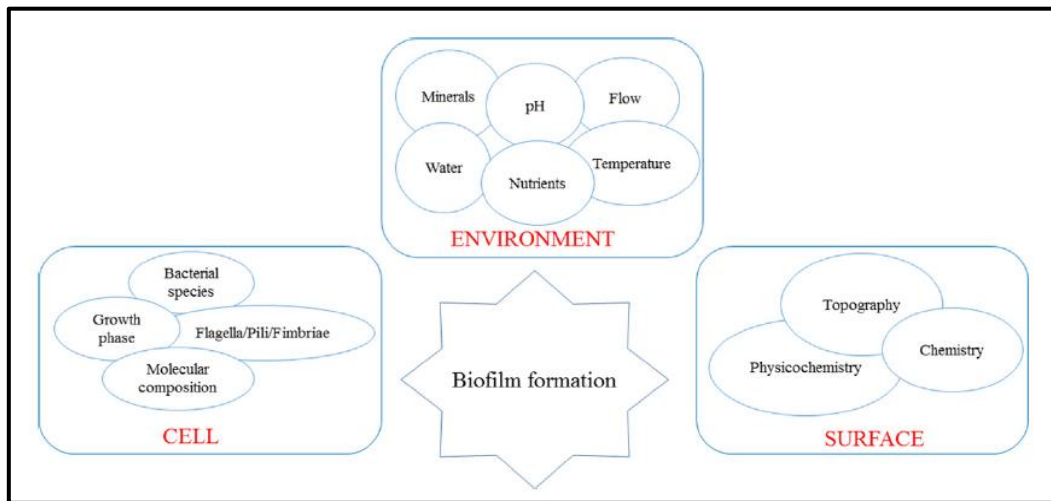


Figure 2 : Principaux facteurs affectant la formation de biofilm (Speranza et Corbo, 2017)

1.4.1. Les propriétés de surface : En industrie agroalimentaire, les matériaux les plus utilisés pour la transformation des aliments et qui sont en contact avec ces derniers sont l'acier inoxydable, le verre, le polystyrène, le téflon et le caoutchouc. En général, les biofilms peuvent se développer sur la surface de chacun de ces matériaux cités précédemment (Vazquez-Sanchez *et al.*, 2013 ; Simoes *et al.*, 2010 ; Chia *et al.*, 2009 ; Hamadi *et al.*, 2005 ; Donlan et Costerton, 2002).

L'adhésion à de tel support dépend de leur propriétés physicochimiques, comme la rugosité, l'hydrophobicité et la charge de surface (García-Gonzalo et Pagán, 2015 ; Donlan, 2002). Par tour, ces facteurs peuvent être modifiés par les conditions environnementales, comme le pH, la température et la composition en nutriments du milieu (Nilsson *et al.*, 2011; Gerstel et Romling, 2001). Les matériaux hydrophobes, tels que les plastiques, sont plus susceptibles de favoriser la fixation des bactéries plus que le verre ou les métaux hydrophiles (Chirkena *et al.*, 2019 ; Sokunrotarak *et al.*, 2013).

1.4.2. Les facteurs environnementaux : La formation des biofilms est fortement influencée par les facteurs environnementaux englobant la disponibilité du milieu en éléments nutritifs, le pH, la température, le gradient en oxygène :

1.4.2.1. La température : Ce paramètre influe sur la physiologie et la croissance de la cellule et les propriétés physiques des composés qui sont à l'intérieure et autour de la cellule (Garrett *et al.*, 2008). La température modifie également les propriétés de la surface et des

cellules comme la charge, l'hydrophobicité, les donneurs et les accepteurs d'électrons. Par exemple, chez *Staphylococcus aureus* le niveau d'hydrophobicité augmente avec l'augmentation de la température ce qui entraînent une adhésion et par conséquent la formation de biofilm (Di Ciccio *et al.*, 2015 ; Chavant *et al.*, 2002).

1.4.2.2. Le pH : Le pH du milieu influence les propriétés physico-chimiques des enveloppes des cellules et l'expression du gène bactérien qui ont un impact sur l'adhésion bactérienne (García-Gonzalo et Pagán, 2015). Pour *staphylococcus aureus*, il s'est avéré que ni un pH trop acide (pH=3), ni trop basique (pH=12) ne pouvait favoriser le développement de leurs biofilms (Liu *et al.*, 2020 ; Khalil et Sonbol, 2014).

1.4.2.3. L'oxygène : L'étude de l'existence d'oxygène (O₂) dans le milieu est une méthode efficace pour montrer la production d'énergie bactérienne, qui influence la formation de biofilm (Anderson et O'Toole, 2008), car l'O₂ est un accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire en aérobie, en absence d'O₂ les microorganismes utilisent généralement des molécules organiques endogènes oxydes (García-Gonzalo et Pagán, 2015 ; Willey *et al.*, 2011) . La concentration en O₂ influence aussi l'hydrophobicité de surface qui détermine l'interaction hydrophobe (García-Gonzalo et Pagán , 2015 ; Moreno-Castilla, 2004).

1.4.2.4. L'hydrodynamique : L'hydrodynamique a un rôle important dans la formation et le développement de biofilm car un fort cisaillement entraîne des forces de détachement supérieure menant à une diminution du nombre de bactéries fixées donc il va former un biofilm plus dense et plus mince (Medeiros, 2016 ; Lecuyer *et al.*, 2011 ; Katsikogianni et Missirlis, 2004 ; Chang *et al.*, 1991).

1.4.2.5. La composition du film de conditionnement : L'attachement des bactéries est affecté par la composition et la concentration de la matrice alimentaire (Kchirkena *et al.*, 2019 ; Van Houdt et Michiels, 2010 ; Rochex et Lebeault, 2007). Plusieurs études ont indiqué que le type du milieu influe la formation des biofilms, par exemple le bouillon Infusion Cœur-Cerveille (BHI) s'est montré plus efficace que le bouillon Tryptone Soja (TSB). La supplémentation du milieu avec le glucose, le saccharase et le chlorure de sodium peut augmenter de manière significatif la formation de biofilm (Liu *et al.*, 2020 ; Singh *et al.*, 2017). Alors que, dans plusieurs cas, une osmolarité élevée de la matrice alimentaire inhibe la formation de biofilm bien que ça dépend du type d'osmolyte (García-Gonzalo et Pagán, 2015 ; Jubelin *et al.*, 2005).

1.4.3. Les propriétés des microorganismes : Les microorganismes s'adhèrent différemment grâce à la variation des caractères physicochimiques de ces derniers. Les bactéries hydrophobes ont la capacité de se fixer sur les surfaces des matériaux hydrophobes tandis que les bactéries hydrophiles s'adhèrent sur les surfaces hydrophiles (**Chirkena et al., 2019 ; Katsikogianni et Missirlis, 2004**). En plus, les bactéries hydrophobes sont plus susceptibles de s'attacher sur les surfaces que les bactéries hydrophiles (**Baillif et al., 2009 ; Katsikogianni et Missirlis, 2004**). Ainsi les interactions entre les différents microorganismes de la population influencent la formation de biofilm mais cette relation entre les communautés n'est pas toujours bénéfique (**García-Gonzalo et Pagán, 2015 ; Bridier et al., 2015**).

1.4.3.1. Le quorum sensing : Le quorum sensing (QS) est un mécanisme intracellulaire qui permet aux espèces bactériennes de communiquer entre elles, d'interagir avec leur environnement et d'agir comme des unités multicellulaires (**Abisado et al., 2018**). Cette communication est basée sur la capacité des bactéries à synthétiser des molécules de signalisation chimiques de faible poids moléculaire, aussi connu comme auto-inducteurs (AI) (**Quecan et al., 2019 ; Li et al., 2018 ; Mizan et al., 2016**). Ce système est impliqué dans de nombreux processus biologiques importants telle que la formation de biofilm (**Mizan et al., 2016 ; Yuan et al., 2018**).

Les bactéries à Gram négatif possède le système lactone acylée homosérine (AHL) pour réguler la formation de biofilm (**Machado et al., 2019 ; Li et al., 2018 ; Skogman et al., 2016**), tandis que les bactéries à Gram positif implique le système peptide autoinducing (AIP). D'autre système appelés autoinducteur-2 système (AL-2) utilisés chez les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (**Preda et Sandulescu , 2019 ; Brackman et Coenye, 2015**) par exemple *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni* impliquent ce système pour former leur biofilm (**Bezek et al., 2016 ; Duanis-Assaf et al., 2015**).

1.5. Problèmes liés aux biofilms en industrie agroalimentaire :

Il est bien connu que la formation des biofilms sur les surfaces en industrie agroalimentaire est une source majeure de contamination microbienne (**Diaz et al., 2016 ; Winkelströter et al., 2014**). Plusieurs facteurs favorisent ce phénomène telles que l'humidité, la concentration abondante en nutriments, les matières premières contaminées par les bactéries (**Curcic-Trajkovska, 2015 ; Bower et al., 1996**). Une fois installés, les biofilms provoquent plusieurs problèmes conduisant à des pertes économiques incluant l'altération des

aliments transformés et la réduction de leurs durée de conservation, la corrosion des matériaux, la diminution du transfert de chaleur, l'augmentation de la résistance au frottement du fluide et par conséquent la détérioration des équipements. Les biofilms présentent un risque pour la santé publique car ils sont à l'origine de la transmission de maladies causées par des microorganismes pathogènes associés aux aliments (Malek, 2019 ; Laura *et al.*, 2016 ; Winkelströter *et al.*, 2014 ; Simoes *et al.*, 2010 ; Gram *et al.*, 2007 ; Bremer *et al.*, 2006 ; Sharman et Anand, 2002).

1.6. Méthodes d'élimination de biofilm :

Il existe plusieurs approches pour lutter contre les biofilms formés en industries agroalimentaires. Ainsi, de nouvelles stratégies sont élaborées pour contrôler et prévenir leur formation.

1.6.1. Méthodes chimiques : La désinfection est une méthode qui permet la destruction des microorganismes très pathogènes ou potentiellement pathogènes sur une surface. Pour une meilleure efficacité, la désinfection doit être précédée par un nettoyage adéquat (Fong et Barn, 2012). Les désinfectants chimiques sont les plus utilisés pour réduire le nombre des microorganismes (Anthony *et al.*, 2015). Parmi les facteurs qui influencent l'action du désinfectant, le PH, la température, la durée d'exposition, l'interaction avec les autres microorganismes, la concentration, la nature de surface et la résistance bactérienne (Van Houdt et Michiels, 2010 ; Simoes *et al.*, 2010 ; Kuda *et al.*, 2008 ; Bremer *et al.*, 2002).

Plusieurs composés se sont montrés efficaces contre les biofilms tels que le NaClO et l'ozone (da Silva *et al.*, 2011 ; Ozdemir *et al.*, 2010 ; Tote *et al.*, 2010 ; Dosti *et al.*, 2005 ; Lagrange *et al.*, 2004 ; Khardre *et al.*, 2001). Par contre, les désinfectants à base de chlore sont les plus utilisés dans l'industrie alimentaire (Galié *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2016) parce qu'ils sont faciles à préparer et à appliquer et sont généralement le plus rentable (Van Houdt et Michiels, 2010).

1.6.2. Méthodes physiques : Les méthodes physiques sont utilisées comme des alternatives des désinfectants chimiques tels que l'utilisation de la lumière avec l'azone pour la pasteurisation (Anthony Let *et al.*, 2015 ; Birmpa *et al.*, 2013 ; Fraise *et al.*, 2013 ; Montville *et al.*, 2012 ; Pereira et Vicente, 2010), et l'utilisation des bioélectrique pour augmenter la pénétration des substances active dans le biofilm (Van Houdt et Michiels, 2010). Ces méthodes doivent être autorisées par l'organisation de réglementation fédéraux et consommateur pour l'utiliser (Montville *et al.*, 2012).

1.6.3. Conception du matériel des équipements : La conception des installations des équipements de transformation alimentaire est très importante. Il faut séparer entre les zones de production, d'emballage et de stockage pour minimiser les contaminations croisées. Les matériaux de transformation et de production sont sélectionnés sur la base de certains critères, la facilité du nettoyage, la résistance à la corrosion chimique et les milieux alcalins et/ou acides surtout pour la transformation du lait (**Coughlan et al., 2016 ; Bremer et al., 2006**).

1.6.4. Bactériophages : Les bactériophages sont des virus qui peuvent infecter les bactéries et affecter la formation de biofilm grâce à leurs enzymes qui peuvent détruire le composant EPS, et puis les bactéries exposées à la surface sont infectées par ces derniers (**Xihong Zhao et al., 2017 ; Harper et al., 2014**). C'est pour cela les bactériophages sont utilisés comme des agents « antibiofilm ». Exemple : leur application sur les surfaces de travail des usines (**Fister et al., 2016 ; Iacumin et al., 2016**). Parmi les facteurs qui influencent ce type de traitement, on cite la synergie/antagonisme entre les phages et le désinfectant, la température qui ne peut être optimal pour le phage (**Galié et al., 2018 ; Gutiérrez et al., 2016**).

1.6.5. Bactériocines : Des peptides antimicrobiens de synthèse ribosomale sécrétés par les bactéries, appelées bactériocines, ou les bactéries productrices des bactériocines (**da Silva et De Martinis, 2013**). Leur utilisation est utile pour empêcher la formation des biofilms sur les surfaces (**Galié et al., 2018**). Jusqu'à présent la nisine est la seule bactériocine autorisée par le Food and Drug Administration des États-Unis (FDA) (**Galié et al., 2018 ; Stempel et al., 2015**). Cette bactériocine permet de prolonger la date de péremption, protéger contre l'altération des produit et réduire le nombre de traitement thermique (**Galié et al., 2018 ; Mattick et Hirsch, 1947**).

1.6.6. Inhibition de QS : L'utilisation des inhibiteur du QS agissent principalement en éteignant le système médiateur QS qui, à son tour, inhibe la communication cellule-cellule par dégradation enzymatique du QS, inhibition des signaux de biosynthèse du QS et le contrôle post transcriptionnel des QS (**Brackman et Coenye, 2015 ; Dong et al., 2001 ; Chung et al., 2011 ; Perez-Martínez et Haas, 2011**).

Cette stratégies ciblant le QS et la formation de biofilms entraînent moins de pression de sélection, et par conséquent, ne développent pas de résistance au composé inhibiteur (Coughlan *et al.*, 2016 ; Brackman et Coenye, 2015).

1.6.7. Traitement par les extraits de plantes : Les plantes produisent plusieurs métabolites secondaires pour leur protection contre les agents pathogènes telle que les virus et les bactéries (Khan *et al.*, 2019 ; Saviuc *et al.*, 2015 ; Kavanaugh and Ribbec, 2012). Ces métabolites sont une bonne source pour lutter contre la formation de biofilm (Suzuki *et al.*, 2015). Les plantes aromatiques sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour inhiber l'adhésion des cellules sur l'acier inoxydable (Coughlan *et al.*, 2016) comme d'origan, thymol , carvacro et le cumin. Ces plantes ayant un effet efficace contre le biofilm comme le biofilm formé par *Staphylococcus spp* (Amechrouq *et al.*, 2018 ; Nostro *et al.*, 2007)

1.6.8. Utilisation des enzymes : Les enzymes peuvent cibler les cellules dans la matrice de biofilm et peuvent provoquer leur détachement mais leur rôle majeur est la dégradation de la matrice extracellulaire (Coughlan *et al.*, 2016 ; Bridier *et al.*, 2015) . Ces enzymes rendent non seulement le biofilm inutile comme un mécanisme de défense des bactéries, mais aussi ils interrompent la communication entre eux, ce qui entraîne leur destruction et leur inactivation. D'autres avantages de ces enzymes sont le pouvoir de ne pas imposer des pressions sélectives sur les bactéries (Kuddus, 2019). Mais l'utilisation de ces enzymes au niveau industriel est toujours entravée en raison du cout élevé de ce traitement (Galien *et al.*, 2018)

Chapitre 2 : Généralité sur *Staphylococcus aureus*

2.1. Historique et taxonomie :

La première description taxonomique de *Staphylococcus* était faite en 1884 par Rosembach (**Barceloux, 2008 ; Albaza et al., 1988 ; Rosenbach, 1884**). Une année après, ZOPF a placé ces derniers dans le genre *Micrococcus* (**Gillespie et Hawkey, 2006 ; Zoph, 1885**) alors que Flugue ensuite a séparé les *Staphylococcus* des *Micrococcus*. En 1955, Evans et ses collaborateurs ont reconfirmé cette séparation sur la base de la fermentation du glucose (**Gillespie et Hawkey, 2006 ; Silvestri et Hill 1965**).

À l'aide des études moléculaires, *Staphylococcus aureus* est classé dans le genre *Staphylococcus*, famille Saphylococcaceae, l'ordre Bacillales et la classe Bacilli (**Tang, 2015 ; Foster, 2001 ; Stackebrandt and Teuber, 1988 ; Ludwig et al., 1985**) (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification du *Staphylococcus aureus* (**Prescott et al., 2010**).

Règne	Bacteria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Staphylococcus</i>

2.2. Description :

Staphylococcus aureus est une cocci de 1µm de diamètre, à Gram positif, immobile et dépourvue de spores et de capsules. Ce genre forme des colonies lisses , pigmentées en jaune sur la gélose au sang et regroupées sous forme de grappe de raisin (Figure 3) sur les cultures en milieu solide, cette forme est due aux division en plusieurs plan (**Bhumia , 2018 ; Fetsch et Johler, 2018 ; Lee et al., 2018 ; ; Martin et al., 2014 ; Hudson, 2014 ; leung , 2014; Liebeke et Lalk , 2014 ; Foley et al., 2011 ;bose et bayles , 2013; Barceloux , 2008 ; Gillespie et Hawkey, 2006**).

Staphylococcus aureus a un seul chromosome circulaire de 2.8 mb qui contient environ 2600 gènes codant pour les protéines (**Bose et Byele, 2013 ; Holden et al., 2010 ; Lindsay et al., 2006**) comme la catalase et la coagulase (**Leung et al., 2014**). Elle procède

également des éléments génétiquement mobiles tels que les plasmides, les transposant et les cassettes chromosomiques. Ces éléments sont responsables de la variation de génome de *Staphylococcus aureus* (Yi-Wei Tang *et al.*, 2015 ; Bose et Byeles, 2013 ; Malachowa et Deleo, 2010 ; Lindsay, 2010)

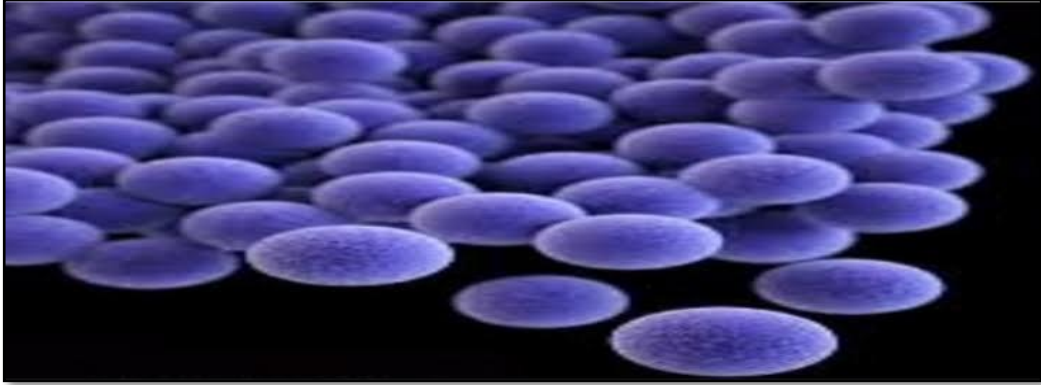


Figure 3 : colonies de *S.aureus* après coloration de Gram sous microscope électronique (Yves et Michel, 2009)

2.3. Habitat :

Staphylococcus aureus est une bactérie trouvée naturellement dans la peau de l'homme et des animaux, la voie respiratoire, génitale et narine antérieure. Presque 30% des humaines sont des porteurs nasaux sans danger commensale (Jenul et Horswill, 2018 ; Bhunia, 2018 ; kim *et al.*, 2017 ; Thapaliya *et al.* , 2017 ; Bose et Bayles, 2013).

2.4. Caractères biochimiques et cultureux :

Staphylococcus aureus est une bactérie Anaérobie facultatif, catalase positif dont ces caractères biochimiques sont regroupés dans le tableau 2 (Bhunja, 2018). Sa mise en culture est réalisée

- **Sur la gélose au sang :** elle donne après 24h d'incubation des colonies jaunes dorées avec β -hémolytiques (hémolyse totale) (Bergon, 2016) (figure 4a)
- **Sur le milieu Chapman 7,5% de Na Cl (milieu hypersalé + mannitol) :** les *Staphylocoques aureus* fermentent le mannitol (virage de l'indicateur de couleur).

- **Sur le milieu Chapman 7,5% de Na Cl (milieu hypersalé + mannitol) :** les *Staphylocoques aureus* fermentent le mannitol (virage de l'indicateur de couleur). La présence de mannitol et de rouge de phénol permet de connaître le caractère mannitol des bactéries. Si le milieu devient jaune veut dire que le milieu est acidifier par fermentation du mannitol et donc la bactérie est mannitol positif (**Touaitia, 2015 ; Tchougoune, 2007**) (Figure 4b)
- **Sur le milieu Baird Parker :** colonies noires avec halo clair. Il s'agit d'un milieu partiellement sélectif qui exploite la capacité des staphylocoques à réduire la tellurite en tellure et à détecter la présence de lécithinase à partir de la lécithine de l'œuf. L'activité de la lipase peut entraîner l'apparition d'une zone de précipitation opaque. (**Corry et al., 2003**) (Figure 4c)

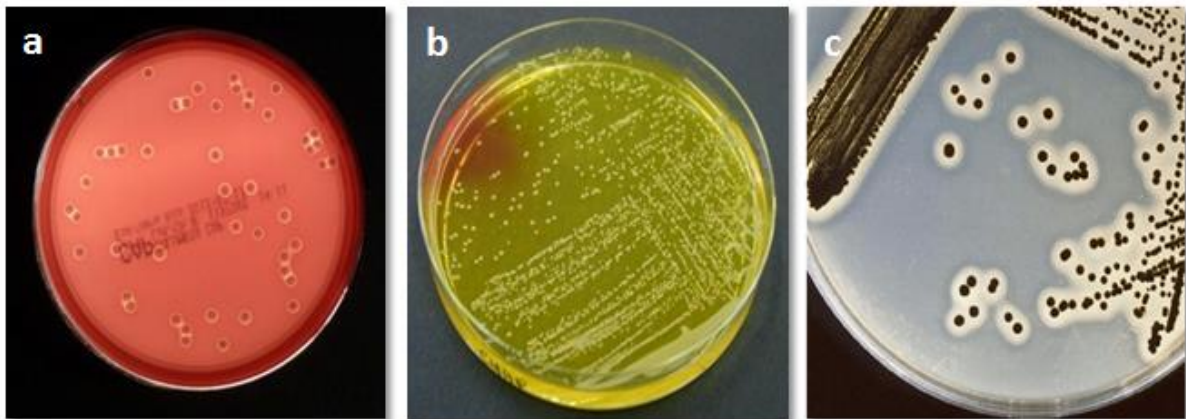


Figure 4 : Aspects culturels de *S. aureus* sur différents milieux de culture ; **(a) :** Colonies bêta-hémolytiques de *Staphylococcus aureus* sur gélose au sang de mouton. Culture 24 heures, en aérobiose, 37 ° C ; **(b) :** Culture de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman (24h à 37°C) ; **(c) :** Colonies de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Baird Parker (18 à 24h/37°C)

Source :

<http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/staphylococcus%20and%20ecoli%20microscopy.html>

Tableau 2. Caractères biochimiques et culturels de *S. aureus* (**Descours et al., 2020 ; Bhunia, 2018 ; Trouillet, 2011**) :

Caractéristiques *S. aureus*

Activité catalase	+
Hémolyse	+
Production de coagulase	+
Production de thermonucléase	+
Sensibilité lysostaphine	+
Production d'acétoïne	+
Fermentation de manitol	+
Aérobie facultative	+
Température	(7-48°C optimum 30-37°C)
pH	(4-10 optimum 6-7)
Activité de l'eau	(0.83-0.99 optimum 0.98)
Na cl	Tolère fortement jusqu'à 20%

2.6. Les facteurs et mécanisme de virulence :

Staphylococcus aureus produit un ensemble de facteurs de virulence tels que des protéines d'adhésion, des superantigènes, des toxines exfoliantes (ET) (**Bhunja, 2018**). De plus, *S.aureus* synthétise des toxines responsables du syndrome du choc toxique, des enterotoxines causant des toxi-infections alimentaires et d'autres facteurs dans le but d'échapper aux systèmes immunitaire de l'hôte (**Grace and Fetsch, 2018**). Cette espèce est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections hospitalières et communautaires. Outre les nombreuses résistances que cette bactérie peut présenter vis-à-vis des antibiotiques et des antiseptiques, cette dernière est également armée pour annihiler de nombreux mécanismes de défenses que son hôte pourrait lui opposer incluant les anticorps, la phagocytose et la cytotoxicité (**Vincenot et al., 2008**).

2.6.1. Molécule d'adhésion : *Staphylococcus aureus* possède plusieurs molécules d'adhésion appelées MSCRAMM (Microbial Surface Coponents-Recognising Adhesive Matrix Molecule). Un exemple de ces MSCRAMM est la protéine BAP (protéines associées à un biofilm) responsable de la formation et la colonisation de biofilm (**Bhamia, 2018 ; Mazomaniam et al., 2001**). Ces molécules sont liées de façon covalente avec le peptidoglycane de la paroi bactérienne mais ça présence dépend de la souche et les conditions de croissance (**Tang, 2015**).

2.6.2. Entérotoxine : Ce sont des protéines globulaires solubles dans l'eau, ayant quatre caractères communs, à savoir, la similarité structurale, la résistance à la chaleur, les enzymes protéolytiques, super-antigénicité, et une activité émétique (**Fetsch et Johler, 2018 ; Bhunia, 2018 ; Le noir et al., 2003**). La leucocidine de Panton-Valentine (LPV) est une toxine β -porogène produite par *Staphylococcus aureus*. Cette exotoxine acquise au cours de l'évolution par *S. aureus* suite à des infections par des bactériophages est codée par les gènes lukPV et lukS. Ceux-ci codent pour 2 protéines qui agissent de façon synergique sur les membranes cellulaires. En s'associant à la surface des cellules cibles, elles forment des pores qui conduisent à la lyse cellulaire et entraînent un afflux calcique intracellulaire responsable d'une augmentation de la production et de la libération de médiateurs de l'inflammation. La LPV agit sur les monocytes, les macrophages et les polynucléaires neutrophiles. C'est la lyse de ces derniers qui, en libérant leur contenu toxique, est à l'origine de lésions nécrotiques des tissus (**Descloux et al., 2007**).

2.7. Les biofilms à Staphylocoques :

Les bactéries du genre *Staphylococcus* ont une aptitude à former des biofilms sur une multitude de surfaces biotiques ou abiotiques (Figure 5). Les biofilms de *Staphylococcus sp* sont connus pour leur capacité élevée de résistance au stress environnemental tel que la T élevée et les agents antimicrobiens. Dans les industries alimentaires cette bactérie s'adapte et forme son biofilm dans les chaînes de production alimentaire, généralement cette contamination est due principalement aux manipulateurs ou à la matière première surtout pour les aliments d'origine animale. (**Shan su et al., 2019 ; Galié et al., 2018 ; Fetsh, 2018 ; Grare, 2016 ; Alan et al., 2016 ; Duhfour et al., 2012 ; Vázquez et al., 2012 ; Simon and Sanjeev, 2007 ; Trampuz and Widmer, 2006**).

Ce biofilm va provoquer des pertes économiques dans les industries alimentaires (**Galié et al., 2018**), également des intoxications alimentaires chez l'homme grâce à l'ingestion des aliments contaminés (**Bhunia, 2018**) c'est pour cette raison qu'il faut chercher de nouvelles méthodes pour éradiquer ce dernier. (**Bevilacqua et al., 2017**)

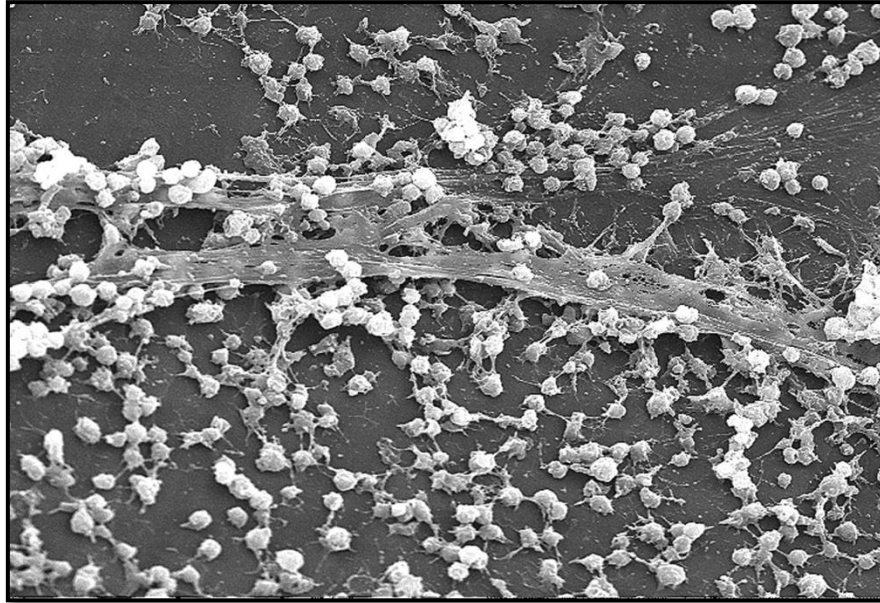


Figure 5 : Image microscopie électronique du biofilm des *Staphylococcus aureus* (4252 × 2890 2 MB JPG)

Source : <https://pixnio.com/fr/science-fr/microscopie-images/staphylococcus-aureus-fr/grossies-microscopie-electronique-nombres-staphylococcus-aureus-bacteries>

Chapitre 3 : Généralités sur le cumin « *Cuminum cyminum* »

Les épices et les herbes sont des constituants utilisés par l'homme depuis l'Antiquité comme exhausteurs de goût et d'arôme, colorants, conservateurs et médicaments traditionnels. Le cumin est une plante médicinale aromatique qui fait partie des épices les plus populaires dans le monde (**Kabak et Dobson, 2015 ; Kaefer et Milner, 2008**).

Depuis longtemps, le cumin est utilisé comme une plante médicinale pour la momification des pharaons, pour traiter les piqûres des scorpions et les maladies oculaires. Il est ajouté dans les plats grâce à leur propriétés gustatives surtout chez les romains (**Kolait et Melzig 2015 ; Kuster, 2012**). Aujourd'hui le cumin devient une épice populaire largement cultivée en Turquie, en Inde, en Chine, en Iran, en Libye et en Palestine (**Soltani et al., 2019 ; Mostafa et al., 2017 ; Siw et Gan, 2015**). La plante est bien documentée avec diverses propriétés fonctionnelles et nutritionnelles dans la littérature scientifique (**Rana et al., 2018 ; Sonika, 2016**).

3.1. Définition du cumin « *Cuminum cyminum* » :

Le cumin est considéré comme la deuxième épice la plus utilisée dans le monde après le poivre noir (**Frachid, 2015**). Il est ajouté aux préparations alimentaires pour son goût et sa saveur. Le cumin est connu pour ses propriétés antioxydantes, antispasmodiques, antimicrobiennes et astringentes (**Dua et al., 2013**). Ces graines séchées sont consommées comme épices et utilisées pour traiter la diarrhée et la jaunisse. Ces semences contiennent de 0.4 à 2.5 % de cuminol qui donne l'arôme (**Lodha et Mawar, 2014**). L'ensemble de ces propriétés est mis en évidence à travers ses extraits aqueux, ses composés inorganiques et ses huiles essentielles (**Allahghadri et al., 2010 ; Siow et Gan, 2014**).

Cuminum cyminum appartient à un répertoire de plantes médicinales et épices connues de pouvoir inhiber la croissance des microorganismes pathogènes y compris *Staphylococcus aureus* (**Dua et al., 2013 ; Chaudhry et Perween, 2008 ; Voravuthikunchai et al., 2005**).

3.2. Description et taxonomie du cumin « *Cuminum cyminum* » :

Le cumin est une plante appartenant à la famille des Apiaceae (Tableau 8), mince herbacée, aromatique, d'environ 50 cm de haut avec un tronc mince ramifié (Figure 6). Ces feuilles sont alternes, peu poilues, de couleur vert bleuté avec 5 cm environ de long. Les pétioles ont des ailes effilées crouteuses. Les fleurs sont en ombelles rayonnantes en groupes de 3 à 5, les pétales sont blanches bordées et pointues. Le fruit est de couleur vert jaunâtre ou

de couleur brune La tige principale est de 3 à 5 cm de diamètre et de couleur vert- gris ou noir (Zhou et Zhenwen, 2020 ; Akhtar *et al.*, 2019 ; Abdelraheim Belal *et al.*, 2017 ; Hajlaoui *et al.*, 2010 ; Lim, 2013 ; Peter, 2003).



Figure 6 : Représentation de la plante de cumin *Cuminum cyminum* (Kolait et Melzig, 2015)

Tableau 3 : Position systématique du cumin (Acimovic *et al.*, 2015) :

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Classe	<i>Dicotyledones</i>
Ordre	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Cuminum</i>
Espèce	<i>Cuminum cyminum</i>

3.4. La composition chimique du cumin « *Cuminum cyminum* » :

Cuminum cyminum est composé de l'eau, de certaines fibres alimentaires, d'hydrate de carbone 0.22 g, des graisses 0.44% g, des vitamines incluant la vitamine A 25.40 UI, E, B1 0.02 mg, B3 0.10 mg et K 0.20 µg. Le cumin contient aussi des éléments minéraux tels le calcium 18.62 mg, le cuivre 0.02 mg, le fer 1.32 mg, le magnésium 7.32 mg, le sodium 3.36 mg et le zinc 0.10 mg (Abderaheim Belal, 2017 ; Singh et al., 2017 ; Rebey et al., 2012 ; Rai et al., 2012). Des acides organiques tels que l'acide aspartique, l'acide citrique, l'acide malique, l'acide tartrique, l'acide propionique, l'acide ascorbique, l'acide oxalique et l'acide fumarique rentrent également dans la composition du cumin (Singh et al., 2017).

Les principaux composés des grains de cumin sont les aldéhydes 60%, les acides aminés, les flavonoïdes, glycoside 22%, cellulose, sucre, huile volatile 2 à 5 % comme le cuminaldéhyde et des huiles fraîches ainsi que les éléments minéraux comme le fer (Singh et al., 2017 ; EL-Khani et al., 2007 ; Lacobellise et al., 2005).

3.5. Molécules actives et effets antimicrobiens du cumin « *Cuminum cyminum* »

Les constituants actifs du cumin sont le cuminaldéhyde qui est présent dans l'huile essentielle (HE) de cumin, qui possède une activité antibactérienne, anti-inflammatoire, propriété anti-aflatoxigène et activité anti-fibrillation et le para-cymène et le thymol (Morshedi et al., 2015 ; Wei et al., 2015 ; Johri, 2011 ; Jirovetz et al., 2005).

Des études antérieures et qui se continuent jusqu'à présent ont mis en évidence l'effet du cumin sur des souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif tout en incluant celles appartenant à l'espèce *Staphylococcus aureus* (Mandal et Mandal, 2016 ; Abdaraim Bilal, 2017 ; Johri, 2011).

Plusieurs travaux ont montré l'efficacité de l'HE des graines du *C. cyminum* contre différentes espèces bactériennes, y compris des bactéries à Gram positif. Cette forte activité est due à la présence des aldéhydes dans son l'HE qui a été testée par la méthode de diffusion sur disque et qui a révélé une zone d'inhibition maximale (Johri, 2011 ; Derakhshan et al., 2008) et un temps total de mort lors de l'exposition à l'HE de *Cuminum cyminum* était de 180 min pour *S aureus* (Asghari Marjanlo et al., 2009).

De plus l'activité antibactérienne, l'EH de *Cuminum cyminum* possède une activité antifongique significative contre *Pseudallescheria boydii* et *Aspergillus flavus*, et contre

différentes espèces pathogènes de *Candida* avec des valeurs de zone d'inhibition qui varient de 7 à 50 mm contre ces organismes testés (**Nostro et al., 2005**).

L'extrait de plante est utilisé comme agent antimicrobien dans l'industrie alimentaire pour conserver les aliments, tout en présentant aucun effet secondaire par rapport aux autres molécules synthétiques ou chimiques (**Dua et al., 2013**).

Selon des études menées par Amechrouq et son équipe, l'huile essentiel de *Cuminum cyminum* a inhibé la croissance de *S. aureus* à partir d'une faible concentration d'environ 0,47 mg/ml, et ils ont concluent que cette huile peut être utilisée comme un substitut pour les conservateurs chimiques pour le contrôle des *S. aureus* qui est l'agent responsable de l'intoxication par la consommation de produits de viande contaminée (**Amechrouq et al., 2018**).



Matériel et méthodes

Afin d'évaluer l'effet antimicrobien du cumin « *cuminum cyminum* » sur la formation de biofilms de *Staphylococcus aureus* isolées du Döner Kebab prêt à manger commercialisée dans région de Tlemcen, nous allons former des biofilms âgés sur des surfaces solides en acier inoxydable, puis différentes concentration de l'extrait aqueux du cumin seront testées à différentes durées de contact. Ce travail sera réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie appliqué à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement (LAMAABE). La méthodologie envisagée est la suivante :

1. Revivification des souches *S aureus* :

Après la récupération des souches conservées à basse température (-80°C), une fraction sera ensemencée sur 5 ml de Bouillon Cœur-Cervelle (BHIB) à l'aide de l'anse de platine puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h. La culture bactérienne sera homogénéisée au vortex et ensemencée par épuisement à l'aide de l'anse de platine sur la gélose BHIA et incubée à 37°C pendant 24h.

2. Observation microscopique :

Le but de cette observation est la vérification de la pureté de la souche bactérienne. Un frottis bactérien sera préparé sur une lame en verre, ensuite une coloration au bleu de méthylène sera réalisée. Après rinçage de la lame, une observation sous microscope optique avec un grossissement Gx100 en ajoutant une goutte de l'huile à immersion sera réalisée. Les bactéries apparaîtront sous forme de coques regroupées en grappe de raisin et coloré en bleu.

3. Conservation sur gélose inclinée :

Pour une conservation à court terme, des tubes à essais contenant 5 ml de gélose nutritive seront préparés de façon inclinés. Après vérification de sa pureté, la souche sera ensemencée par stries sur la gélose inclinée, puis incubée à 37°C pendant 24h et conservée au réfrigérateur pendant 20 jours.

4. Préparation de l'extrait de cumin :

Les grains de cumin seront séchés à l'aire libre pendant quelque jour puis broyés à l'aide d'un moulin électrique comme illustré dans la figure 7. Par la suite, 500 mg de cette matière sèche sera mélangée dans 8 ml d'eau bouillante et l'extrait de cette dernière sera

stocké dans un b cher fermé au réfrigérateur à 5 C pendant 7 jours avant son utilisation selon le protocole élaboré par **Anesini et Perez (1993)**



Figure 7 : Photo des grains de cumin utilisé dans cette étude ; (a) : les grains séchés et (b) : les grains broyés.

5. Effet du cumin sur le Biofilm de *Staphylococcus aureus* :

5.1. Développement du biofilm mono-espèce à *Staphylococcus aureus* :

5.1.1. Préparation du système :

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 et al., (2001)**. Il 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 8). Les lames font 2.5 cm de longueur et 1 cm de largeur et ont une épaisseur de 1mm. Une fois nettoyé, le système est placé dans un b cher stérile et couvert par du papier aluminium avant sont autoclavage.

Le système sera nettoyé et stérilisé selon le protocole décrit par **Rossoni et Gaylarde (2000)**. Tout d'abord, un lavage par l'acétone pure sera appliqué (un produit hyper efficace pour le détachage) puis immergé dans le NaOH afin de neutraliser la phase organique acide. Après 1 h, l'ensemble du système sera retiré, rincé à l'eau distillée et séché avant le second lavage par l'alcool 70% et le rinçage final par l'eau distillée. Il sera incubé à l'étuve, par la suite, pendant 2 h à 60 C, puis autoclavé   121 C pendant 20min.



Figure 8 : Le système d'acier inoxydable utilisé pour la formation des biofilms

5.1.2. Préparation de suspension bactérienne :

À partir de la gélose inclinée, la suspension bactérienne sera préparée par ensemencement dans 5 ml de BHIB et incubé à 37°C pendant 24 heures. La densité optique (DO) doit être ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre (de 0,08 à 0,1=10⁸ UFC).

5.1.3. Développement de biofilm :

Un mélange de 200 ml du BHIB à 0.25 % de glucose et 50 ml de la suspension bactérienne seront versés dans le bécher contenant le système et incubés par la suite à 37°C pendant 10 jours sous agitations 100 tour par minute (rpm).

5.1.4. Traitement de biofilm :

Les lames sur lesquelles les biofilms seront développés seront rincées par un tampon phosphate salin (PBS) pour éliminer la totalité des cellules bactériennes non adhérentes. Elles seront plongées par la suite dans des tubes remplis par les concentrations d'extrait de cumin déterminées, à savoir 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 et 5% et laissées agir pendant 5, 10, 15 et 20 min pour chaque concentration, puis le dénombrement a été directement contrôlé.

5.1.5. Dénombrement :

Les lames seront transformées dans 10ml de solution saline. Chaque tube sera placé dans le bain à ultrason à 100Hz pendant 2.5 min, puis homogénéisé au vortex durant 30 secs. Cette opération sera répétée une 2^{ème} fois pour récupérer toutes les cellules adhérentes aux lames. Une série de dilution décimale sera préparée par la suite et un volume de 100µl de

chaque tube sera ensemencé sur le milieu PCA (Plate Count Agar). L'effet de chaque concentration sera testé en duplicate. L'incubation sera faite à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation le dénombrement sera réalisé et les résultats seront exprimés en ufc/cm² 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 cm².

Pour les lames témoin, le nombre sera noté N₀, 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 sera déterminée de la manière suivante :

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


- **N₀** : nombre de cellules témoins non traitées.
- **N_F** : nombre de cellules récupérées après traitement.



Analyse d'articles

Choix d'articles :


Article



FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY INTERNATIONAL

Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* biofilms

Daniel Vázquez-Sánchez, Marta L Cabo and
Juan J Rodríguez-Herrera



Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

ISSN Print: 0972-060X
ISSN Online: 0976-5026

Cell Attachment Inhibition and Anti-biofilm Activity of *Syzygium aromaticum*,
Cuminum cyminum and *Piper nigrum* Essential Oils Against Pathogenic Bacteria

Manasa Ravindra Walmiki and V. Ravishankar Rai *

Department of Studies in Microbiology, University of Mysore,
Manasagangotri, Mysore 570006, Karnataka, India

Received 18 April 2016; accepted in revised form 12 December 2016

Vue les circonstances actuelles imposées par la pandémie du virus covid-19, la partie pratique envisagée n'a pas été réalisée. Du coup, dans cette partie des résultats obtenus par des études antérieures qui portent sur la même thématique seront discutés.

Plusieurs études ont fait l'objectif de l'évaluation de l'effet antimicrobien des huiles essentielles du cumin « *Cuminum cyminum* » sur la formation de biofilms de *Staphylococcus aureus*, deux ont été choisies. La première étude faite en 2014 est menée par Va'zquez-Sa'nchez et ses collaborateurs dont les souches de *S. aureus* étaient isolées à partir de plusieurs produits commercialisés de pêche, tandis que le second travail est réalisé par Walmiki & Rai en 2017 et qui ont obtenu leurs souches auprès du centre de collection de cultures microbiennes (MTCC), Chandigarh, Inde.

La méthode suivie par Va'zquez-Sa'nchez et ses collaborateurs a été initiée par une identification de la souche de *S. aureus* par des tests biochimiques et génétiques basés sur la fermentation du mannitol, test de la coagulase et DNase, séquençage de l'ADNr 23S et caractérisation par une amplification d'ADN polymorphique aléatoire (RAPD)-PCR avec trois amorces. Les échantillons bactériens ont été maintenus à 80°C dans un bouillon de soja tryptone (TSB) contenant 20% de glycérol (v/v). Un échantillon de la culture a été décongelé, puis utilisé pour faire deux sub-cultures dans du TSB à 37°C pendant 24h sous conditions statiques avant chaque expérience. Ils ont extrait par la suite les huiles essentielles par une distillation à la vapeur à partir de grains de cumin. Le biofilm de *Staphylococcus aureus* est formé dans des plaques de micro-titration à 24 puits, des cultures de *S. aureus* ont été ajustées à une valeur d'absorbance de 700 nm avec une solution saline au phosphate PBS ce qui correspond à une concentration cellulaire de 10^8 UFC / ml. Les cellules en suspension dans le PBS ont ensuite été 100 fois diluées en série dans du TSB et 700µl ont été ajoutée dans chaque puits avec un coupon. La taille de l'inoculum a été vérifiée dans tous les cas par étalement sur gélose de soja tryptone (TSA). Les microplaques ont été incubées à 25 ° C dans des conditions statiques jusqu'à l'analyse.

La résistance du biofilm de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de différentes concentrations d'huiles essentielles (HE) de cumin a été testée (0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09%, 0,10%, 0,50%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5% et 3% (v / v)). Un contrôle positif sans HE, un contrôle négatif sans inoculum et un blanc témoin avec du milieu uniquement ont été inclus dans tous les tests. Les microplaques ont été incubées pendant 24 h à 37 ° C dans des conditions statiques. Les puits ont ensuite été colorés avec 10 µL de

solution de sel de sodium de résazurine à 0,01% (p/v), et incubés à 37 ° pendant 2 h supplémentaires.

Les HE ayant la plus grande efficacité contre les cellules planctoniques ont été évaluées par rapport à des biofilms vieux de 48 h (c'est-à-dire des films représentant un exemple du pire scénario dans l'industrie alimentaire), contenant environ 5×10^6 UFC /cm². Après le temps d'incubation, les coupons ont été placés dans une nouvelle microplaque et lavés avec 1 ml de PBS pour éliminer les cellules non adhérentes. Les coupons ont ensuite été exposés à 1,5 ml d'EH à 12 concentrations (0,10%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 4%, 6% et 8% (v / v)) pendant 30 minutes.

Par la suite, les coupons ont été placés dans des flacons en verre stériles et 9 ml de bouillon neutralisant ont été ajoutés et laissés reposer pendant 10 minutes à température ambiante, Les cellules du biofilm ont ensuite été recueillies en frottant soigneusement la surface des coupons avec deux tampons stériles.

Les écouvillons ont été immergés dans 9 ml d'eau peptonée avec 5 g/L de chlorure de sodium et vigoureusement vortexés pendant 1 minute pour une remise en suspension de cellules. Des dilutions en série de dix fois des cellules remises en suspension ont été faites dans de l'eau peptonée et 0,1 ml de dilutions appropriées a été étalée sur des plaques de TSA.

La Réduction logarithmique a été déterminée comme la différence entre le logarithme du nombre total de cellules viables dans les biofilms non exposés aux désinfectants

Pour ce qui est de Walmiki & Rai, ils ont cultivé la souche de *S. aureus* dans 10 ml de milieu TSB et l'ont incubé pendant 24h à 37°C. Puis ils ont extrait l'huile essentielle par une extraction avec du dioxyde de carbone grâce à leur avantage non toxiques qui ne laisse aucun résidu nocif et qui facilite la récupération de l'extrait, et réalisé par la suite une chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Les puits de micro-titration (contenant 96 puits) stérile a été installé de la manière suivante pour chacune des huiles;

- De la colonne 1-5 contient différentes concentrations d'huile ainsi que l'Agar, le TSB et les bactéries d'essai.
- La colonne 6 contient les bactéries d'essai et le bouillon comme contrôle positif.
- La colonne 7 contient le TSB comme contrôle négatif.

La plaque de micro-titration a été incubée pendant 18h à 37 °C. Le pourcentage d'inhibition des huiles a été calculé avec la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [(\text{Contrôle DO} - \text{DO expérimental}) / \text{DO Control}] \times 100$$

Un inoculum bactérien a été ajouté aux puits et conservé pendant une nuit d'incubation à 37 °C (pour obtenir la formation de biofilm).

Un mélange d'huiles essentielles et de l'Agar avec des concentrations respectives (1,5%, 1,75%, 2%, 2,25%, 2,5% v / v) a été soigneusement distribué sur un biofilm bactérien préformé. Les colonnes 6 et 7 sont conservées pour les contrôles positifs et négatifs respectivement. La plaque a ensuite été incubée pendant 24h à 37°C, puis lavée trois fois avec du PBS et la distillation du colorant se fait en ajoutant 99% d'éthanol. Les plaques ont été incubées pendant 30 minutes en fermant bien le couvercle. La DO a été lue à une absorbance de 590 nm en utilisant un Lecteur ELISA

Le pourcentage d'inhibition pour chaque réplica a été calculé et la moyenne du pourcentage d'inhibition a été considérée pour l'analyse ultérieure. Les données ont été analysées plus en détail avec une analyse à trois voies de la variance (ANOVA) à l'aide du logiciel SPSS version 22.0 suivie du test de Tukey. La valeur $p < 0,05$ était considérée comme significative.

Les résultats de Vazquez-Sanchez et ses collaborateurs sur la résistance des biofilm de *Staphylococcus aureus* de 48 h aux huiles essentielles testées a été déterminée par la réduction logarithmique provoquée par les huiles essentielles. Aucune des huiles testées n'avait la capacité d'éliminer complètement le biofilm et il existe également une grande variation dans l'efficacité de ces huiles essentielles, et le cumin possède un effet significatif sur le biofilm à partir d'une dose de 2%. Ces résultats sont similaires aux résultats de Walmiki et Rai, de sorte que leurs analyses statistiques ont également montré une différence significative dans les huiles, la concentration des huiles et les interactions entre elles dans les biofilms préformés ($p < 0,001$) inhibant. Selon le test de Tukey, le pourcentage moyen d'inhibition du *Cuminum cyminum* pour les biofilms préformés est de 48,88. Ces analyses montrent également que *Staphylococcus aureus* est le plus résistant aux huiles essentielles par rapport aux autres bactéries, qui ont été testées avec une moyenne de 40,61

Vazquez-Sanchez et ses collaborateurs disent que la résistance de *Staphylococcus aureus* aux huiles essentielles augmente en mode biofilm par rapport aux souches homogènes libres, et la différence entre l'efficacité des huiles est forte ; Walmiki & Rai disent également que les bactéries de la communauté des biofilms sont plus virulentes que la cellule planctonique, ce qui augmente leur résistance aux agents antimicrobiens et la différence significative entre les huiles et la concentration des huiles et de l'organisme signifie que l'effet diffère selon les huiles et leur activité augmente avec l'augmentation de la concentration.

D'après ces deux études, l'effet de l'huile essentielle du cumin sur les biofilms de *Staphylococcus aureus* dépendrait de plusieurs facteurs. Vazquez-Sanchez et ses collaborateurs en concluent que la différence est due à la nature, à la concentration de composés actifs tels que les composés phénoliques, à la composition et à la géométrie des biofilms, à la réactivité et à la vitesse de diffusion des huiles dans la matrice des biofilms tandis que Walmiki et Rai ont constaté que l'activité des huiles dépend des méthodes d'extraction, la quantité des composés phénoliques présents dans ces huiles et la partie de la plante utilisée.

Donc à partir des résultats de Vazquez-Sanchez et ses collaborateurs, et de Walmiki et Rai, *Staphylococcus aureus* est plus résistant aux huiles essentielles telles que les huiles de *Cuminum cyminum* par rapport aux autres bactéries et leur résistance augmente quand elle est dans un biofilm. Aussi il y a plusieurs facteurs qui affectent l'efficacité des huiles comme la dose, la composition des huiles et les biofilms testés. C'est pour cela qu'il faut prévenir la formation de biofilm plutôt que sa perturbation et son élimination, car il est difficile de l'éradiquer.

Conclusion générale :

Un biofilm est une sorte de couche composée de micro-organismes dont les bactéries, virus, champignons et autres micro-organismes... s'attachant à travers une matrice collante aux surfaces.

Ce dernier a la caractéristique d'adhérer facilement sur les surfaces des équipements aussi bien en agroalimentaire qu'en restauration et à être difficilement biodégradable. Il est connu pour sa résistance vis-à-vis aux produits de nettoyage, aux désinfectants chimiques, aux antibiotiques et autres agents antimicrobiens. Aujourd'hui, le biofilm cause de nombreux problèmes économiques et sanitaires, sa présence dans les industries constitue un problème relatif à la qualité et la sécurité des produits alimentaires et responsable également des toxi-infections alimentaires.

Parmi les bactéries capables de former un biofilm, on cite les *Staphylococcus aureus* qui sont l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elles ont une capacité toxique, un pouvoir d'élaborer des toxines et responsables de nombreuses intoxications alimentaires. Ils sont également connus pour leurs capacités à former des biofilms notamment au niveau des industries alimentaires grâce à leurs résistances contre les agents antibactériens.

Les huiles essentielles possèdent d'importantes activités antibactériennes y compris celle du cumin qui a montré son efficacité contre de nombreux microorganismes pathogènes. Plusieurs études se sont consacrées à l'étude de l'effet de l'huile essentielle du *Cuminum cyminum* sur les biofilms formés par *Staphylococcus aureus*. Cette huile s'est montrée efficace à différentes concentrations dans la réduction de ces biofilms mais non pas dans l'éradication complète.



Références bibliographiques

Abisado RG., Benomar, S., Klaus, JR., Dandekar, AA., Chandler, JR. Bactérien détection de quorum et interactions des communautés microbiennes. MBIQ, 2018, Vol 9 (3).

Abraham.P ET Paridhavi.M. A review of comprehensive study on medicinal plants of polyherbal formulation-Churna, Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research,2013,Vol 6(4), pp. 10-18.

Aćimović.M. G, Kostadinović.L. M, Popović.S. J, ET Dojčinović.N. S. Apiaceae seeds as functional food, Journal of Agricultural Sciences, 2015, Vol 60(3), pp. 237-246.

Akhtar Ali, Kamal Kishore Khichi, Anusuya Gehlot , et Rajkumar Rathore. A study on albino rat for anticonvulsant properties of *Cuminum cyminum*: An experimental study. Journal of Medicinal Plants Studies, 2019, Vol 7(1), pp. 103-105.

Almeida , R N ., Costa , PR .,Santos de Oliveira , J A ., Ferreira , MB ., Martins , OA ., Raghianti , F . Natural alternatives for reducing bacterial biofilms in food industry . Revista Brasileira e Higiene e Sanidade Animal , 2017 , Vol. 11, 2 , p. 144 –150 .

Allahghadri T, Rasooli I, Owlia P, Nadooshan,M. J , Ghazanfari T, Taghizadeh M, et al. Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran. Journal of Food Science, Vol 75, pp. 54-61.

Amechrouq A. , Elhourri M. , Ghouati Y. , Chakir S. , Lemrhari A. Comparative study of the chemical composition of essential oils of *Cuminum cyminum* seeds of the Mediterranean . RHAZES: Green and Applied Chemistry, Vol.3, 2018, pp. 47-57.

Amina Abdelraheim Belal, Faroug B. M. Ahmed, Lyali Ibrahim Ali. Antibacterial Activity of *Cuminum Cyminum L.* Oil on Six Types of Bacteria. American Journal of BioScience, 2017, Vol 5(4), pp. 70-73.

Anderson G.G, O’Toole G.A. Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. In: Romeo, T. (Ed.), Bact. Biofilms. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2008, pp. 85–105.

Anne Jensen, Marianne H. Larsen, Hanne Ingmer, Birte F. Vogel, Lone Gram (2007). Sodium chloride enhances adherence and aggregation and strain variation influences invasiveness of *Listeria monocytogenes* strains. Journal of Food Protection. 70(3):592-599.

Anonyme. Bacteria under Microscope *Staphylococcus aureus*. Disponible sur :

<http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/staphylococcus%20and%20ecoli%20microscopy.html>

Anonyme. Image microscopie électronique du biofilm des *Staphylococcus aureus*. Disponible sur : <https://pixnio.com/fr/science-fr/microscopie-images/staphylococcus-aureus-fr/grossies-microscopie-electronique-nombres-staphylococcus-aureus-bacteries>

Anthony , L ., Pometto , III ., Demirci , A . Biofilms in the Food Environment. Second Edition . John Wiley & Sons, Ltd , 2015 , pp. 89-91 .

Arciola CR., Campoccia D., Baldassarri L., Donati M E., Pirini V., Gamberini S., Montanaro, L. Detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from implant infections. Comparison of a PCR - method that recognizes the presence of ica genes with two classic phenotypic methods. J. Biomed. Mat. Res, 2005, Vol 76, pp. 425-430.

Ashraf, M., Naqvi, MH., Iqbal , MM. Biofilms for Microbial Environmental Waste Management: An Overview. The core. 2001, Vol 38, pp. 131-135.

Asma Cherif-Antar; Boumediene Moussa–Boudjemâa; Nassima Didouh; Khadidja Medjahdi; Baltasar Mayo et Ana Belén Flórez. Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant. Dairy Sci. & Technol, 2016, DOI 10.1007/s13594-015-0235-4.

Asghari , MA., Mostofi, Y., Shoeibi, S., Fattahi ,M. Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. J. Med. Plants, 2009, Vol 8, pp. 25–43.

BAGGE , D ., HJELM, M., JOHANSEN , C ., HUBER , I ., GRAM , L. Shewanella putrefaciens Adhesion and Biofilm Formation on Food Processing Surfaces . APPL. ENVIRON. MICROBIOL , 2007 , Vol. 67, No. 5 .

Bahraminejad , A., Mohammadi-Nejad , G., Kadir , MA., Yusop , MRB. Molecular diversity of Cumin (*Cuminum cyminum L.*) using RAPD markers. Aust. J. Crop Sci, 2012, Vol 6, pp. 194–199.

Baillif , S ., Hartmann , D ., Freney , J. , Kodjikian , L . Implantation intraoculaire bactérienne : influence des conditions environnementales, des propriétés bactériennes et les caractéristiques du biomatériau. Journal français d’ophtalmologie, 2010, Vol. 33 , pp .210-221.

Belal, AA ., Ahmed ,F B M ., Ali , L I . Antibacterial Activity of *Cuminum Cyminum L.* Oil on Six Types of Bacteria. American Journal of BioScience , 2017 , Vol. 5(4) , pp. 70-73 .

Référence bibliographiques

Bergon Ludovic. *S. capitis, S. caprae et S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques. Th. Doctorat : Biologie médicale. Université toulouse iii paul sabatier, 2016, 14p.

Bester ., Kroukamp , O., Wolfaardt, GM., Boonzaier, L., Liss SN. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates. *Appl Environ Microbiol* 2010, Vol 76(4), pp. 97.

Bevilacqua , A ., Carbo , NR ., Sinigaglia , M . the microbiological quality of food . 1 ere édition , 2017 , publier serie in food science , technologie and nutrition , pp 259 .

Beyenal , H., Lewandowski , Z. Combined effect of substrate concentration and flow velocity on effective diffusivity in biofilms. *Water Res*, 2000 Vol 34, pp. 528–538.

Bézec, K., Kurincic, M., Knauder, E., Klancnik, A., Raspor, P., Bucar, F., Smole Mozina, S. Atténuation de l'adhérence, la formation de biofilm et de détection de quorum *Campylobacter jejuni* par *Évodie rutilcarpa*. la recherche Phytothérapie, 2016 ,Vol. 30 (9), pp.1527-1532.

Bhunja , A K . Foodborne Microbial Pathogens ,Mechanisms and Pathogenesis . Foodborne Microbial Pathogens , 2018, pp 181-192 .

Birmpa ,A ., Sfika , V ., Vantarakis , A. Ultraviolet light and ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology* , 2013 , Vol. 167 , pp.96–102.

Bobbarala. V, Rybicki. EP, Chikwamba. R, Koch M, Rhodes. JI, Groenewald. JH. A Search for antimicrobial agents. Croatia, In Tech; Plant made therapeutics: an emerging platform in South Africa. *AJB*, 2012, Vol 30(2), pp. 449–59.

Bower, C K., McGuire J., Daeschel , M A. The adhesion and detachment of bacteria and spores on food-contact surfaces. *Trends Food Sci. Technol*, 1996 , Vol.7, pp. 152-157.

Bose , JL ., Bayles , KW . *Staphylococcus aureus*. Second Edition. Elsevier Inc , 2013 , Vol. 6 , 553-555 .

Brackman, G., Coenye, T. Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Curr. Pharm. Des* , 2015 , Vol. 21, pp. 5–1

- Branda, SS., Vik, S., Friedman, L., Kolter, R.** Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol* , 2005 , Vol. 13, pp.20–26.
- Bremer, P.J., Monk, I., Butler, R.** Inactivation of *Listeria monocytogenes/Flavobacterium spp.* biofilms using chlorine: impact of substrate, pH, time and concentration. *Lett. Appl. Microbiol* , 2002 , Vol. 35 (4), pp.321-325.
- Bridier, A., Sanchez-Vizueté, P., Guilbaud, M., Piard, J.C., Naitali, M., Briandet, R.** Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food Microbiol* , 2015 , Vol. 45,pp. 167-178.
- Bryers , J.D., Ratner , B.D.** Bioinspired implant materials befuddle bacteria. *ASM News—Am. Soc. Microbiol*, 2004, Vol 70, pp. 232–237.
- Chaignon, P., Sadovskaya, I., Ragunah, C., Ramasubbu, N., Kaplan, J.B., Jabbouri, S.** Susceptibility of staphylococcal biofilms to enzymatic treatments depends on their chemical composition. *Appl. Microbiol. Biotechnol* , 2007 , Vol. 75, pp. 125–132.
- Chandler, J.R.** Bactérien détection de quorum et interactions des communautés microbiennes. *MBIO*, 2018, Vol 9 (3).
- Chaudhry NMA, Perween Tariq.** In vitro antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. *Pak. J Botany*, 2008, Vol 40(1), pp. 461-467.
- Chia, T.W. , Goulter, R.M. , McMeekin, T. , Dykes, G.A. , Fegan, N.** Attachment of different *Salmonella serovars* to materials commonly used in a poultry processing plant. *Food Microbiol* , 2009 , Vol .26, 853-859.
- Chirkena ,K. , Ulusoy , B. , Hecer , C.** Bacteriel biofilm: formation, properties and Prevention in Food industry . *Derieme review* , 2019 , Vol. 3 , 2 ,pp. 87-100 .
- Chung, J., Goo, E., Yu, S., Choi, O., Lee, J., Kim, J.** Small-molecule inhibitor binding to an N-acyl-homoserine lactone synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* , 2011 , Vol. 108, pp. 12089–12094 .
- Claudia Anesini et Cristina perez.** Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 1993, Vol 39, Issue 2, Pp. 119-128.

Référence bibliographiques

Conrad, J.C. Physics of bacterial near-surface motility using flagella and type IV pili: implications for biofilm formation. *Research in Microbiology*, 2012, Vol 163(9-10), pp. 619-629.

Corry, JEL ., Curtis , GDW ., Baird , RM. View on ScienceDirect Handbook of Culture Media for Food Microbiology.2003. Second Edition, Vol 37, p 401.

Coughlan, LM., Cotter, PD., Hill, C ., Alvarez-Ordóñez , A . New Weapons to Fight Old Enemies: Novel Strategies for the (Bio) control of Bacterial Biofilms in the Food Industry. *Front. Microbiol*, 2016, Vol. 7, pp.1641.

Curcic-Trajkovska , B. Bacterial biofilms mess up in food industry . *Journal of Hygienic Engineering and Design* , 2015 , Vol 67 .

Da Silva, E., De Martinis, E. Current knowledge and perspectives on biofilm formation: the case of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Microbiol. Biotechnol* , 2013.

Daniel Va'zquez-Sa'nchez, Marta L Cabo and Juan J Rodri'guez-Herrera. Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Food Science and Technology Internationa*, 2014, Vol, 10, pp. 2-9.

Delia , G., Fetsch , A . “*Staphylococcus aureus*—A Foodborne Pathogen: Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control: An Overview.” In *Staphylococcus aureus*. Elsevier, 2018, pp. 3–10.

Derakhshan, S., Sattari , M., Bigdeli M. Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid integrity of *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacogn. Mag*, 2010, Vol 6, pp. 57–61.

Descours , G., Pestel-Caron , M., Marchandin , H . Fiche espèce BACTERIOLOGIE AEMIP 2020 « *Staphylococcus aureus* ». Association des Enseignants de Microbiologie et d'Immunologie des Facultés de Pharmacie, 2020, pp. 1_4.

Diaz, M ., Ladero, V., del Rio, B., Redruello, B., Fernández ,M M. , Martin, C ., Alvarez, MA . Biofilm-Forming Capacity in Biogenic Amine-Producing Bacteria Isolated from Dairy Products. *Front. Microbiol* , 2016 , Vol. 7 , pp.591.

Di Ciccio, P., Vergara, A., Festino, AR, Paludi, D., Zanardi, E., Ghidini, S., Ianieri, A. formation biofilm par *Staphylococcus aureus* sur les surfaces de contact alimentaire:

Relations avec la température et le caractère hydrophobe de la surface cellulaire. *Nourriture Contrôle* , 2015 , Vol 50,pp. 930-936.

Donald , G., Barceloux, MD . *Medical Toxicology of Natural Substances* .John Wiley & Sons, Inc , 2008 , pp 156-157.

Donlan , RM., Costerton , JW .Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 2002, Vol 15, pp. 167-193.

Dong, Y H., Wang, L H., Xu, J L., Zhang, H B., Zhang, X F., Zhang, L H. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. *Nature* , 2001 , Vol.411, pp.813–817.

Dosti, B., Guzel-Seydim, Z., Greene, AK. Effectiveness of ozone, heat and chlorine for destroying common food spoilage bacteria in synthetic media and biofilms. *Int. J. Dairy Technol* , 2005 , Vol. 58 (1), pp. 19-24.

Douarche , C., Bailleux , V., Even , C., Allain , JM., Regeard , C ., Raspaud , E. La mécanique des biofilms à la surface de liquides. *Reflets de la Physique*, 2018, Vol 56, 20p.

Dua , A., Gaurav , G., Balkar , S., Mahajan , R. Antimicrobial properties of methanolic extract of cumin (*Cuminum cyminum*) seeds. *Ijrap*, 2013, Vol 4(1), pp. 104- 107.

Duanis-Assaf, D., Steinberg, D., Chai, Y., Shemesh, M. Le quorum à base LuxS gouverne de détection du lactose induit la formation de biofilm par *Bacillus subtilis*. *Frontiers in Microbiology*, 2015 , Vol. 6, pp. 1517.

Dufour, D., Leung, V., Lévesque, CM. Bacterial biofilm: structure, function, and antimicrobial resistance. *Endod. Top* , 2012 , Vol. 22 , pp. 2–16.

Dunne, WM. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?. *Clinical Microbiology Reviews*, 2002, Vol 15, pp. 155-166.

Elbaze , P., Ortonne ,JP . Chronic furunculosis . *Ann Dermatol Venereol* ,1988 , Vol. 115 pp. 859 – 864 .

Elias Soltani , Seyed Mohammad Mahdi Mortazavian, Soheila Faghghi, Gholam Ali Akbari. Non-deep simple morphophysiological dormancy in seeds of *Cuminum cyminum L.* *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2019, 1-2 p.

- El-Kani , M ., Fereshteh ,G ., Mehdi , M ., Soosan R.** Extraction of volatile oil from cumin (*Cuminum cyminum L.*) with superheated water. *Journal of food process engineering* , 2007, Vol. 30(2) , pp. 255-266 .
- E M Rossoni et C C Gaylarde.** Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. *ELSEVIER*, 2000, Vol 61 (1), pp. 81-5.
- Egan, S., Thomas, T., Kjelleberg, S.** Unlocking the diversity and biotechnological potential of marine surface associated microbial communities. *Current Opinion in Microbiology* , 2008 , Vol. 11, 219-225.
- Esmaeili , F.** Composition of Essential Oil of *Cuminum cyminum*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2015, Vol 18 (2), pp. 507 – 509.
- Fetsch , A .** *Staphylococcus aureus* . Elsevier Inc , 2018, pp. 13-38 .
- Fetsch , A. , Johler , S .** *Staphylococcus aureus* as a Foodborne Pathogen. *Current Clinical Microbiology Reports* ,2018 ,Vol. 5, pp. 88–96.
- Fister, S., Robben, C., Witte, A K., Schoder, D., Wagner, M., Rossmanith, P.** Influence of environmental factors on phage–bacteria interaction and on the efficacy and infectivity of phage P100. *Front. Microbiol* , 2016 , Vol 7 , pp.1152.
- Flemming , HC, Wingender , J .** The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 2010. Vol 8(9), pp. 623-633.
- Flemming, H-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S A., Kjelleberg, S.** Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016 , Vol. 14, 563–575.
- Fong , D ., Prabjit , B .** Nettoyage, désinfection et stérilisation dans les établissements de services personnels Daniel . Centre de collaboration nationale en santé environnementale ? 2012 , pp. 2 .
- Fraise , AP ., Maillard , J., Sattar , SA.** Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization, 5th edn. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell , 2013.
- Galié , S ., García-Gutiérrez , C ., Miguélez , EM ., Villar , C J., Lombó , F .** Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods . *Frontiers Microbiol* , 2018 , Vol 9 , 898.

Gautam , C K., Srivastav , A K., Bind , S., Madhav , M., Shanthi , V. An insight into biofilm ecology and its applied aspects. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2013, Vol 5 Issue 4, pp. 69-73.

Gautam , C K., Srivastav , A K., Bind , S., Madhav , M., Shanthi , V. An insight into biofilm ecology and its applied aspects. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2013, Vol 5 Issue 4, pp. 69-73.

García-Gonzalo, D ., Pagán R . Influence of Environmental Factors on Bacterial Biofilm Formation in the Food Industry: A Review . Journal of Postdoctoral Research , 2015 ,Vol. 3, No. 6 , pp. 3-13.

GRARE Marion. *S. capitis, S. caprae et S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques. Th. Doctorat : BIOLOGIE MÉDICALE. UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER, 2016, 18 p.

Garrett , TR., Bhakoo , M., Zhang , Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. Progress in Natural Science. 2008, Vol 18, pp. 1049–1056.

Gerstel, U ., Romling, U. Oxygen tension and nutrient starvation are major signals that regulate *agfD* promoter activity and expression of the multicellular morphotype in *Salmonella typhimurium*. Environ Microbiol , 2001 , Vol. 3, pp.638-648.

Gewürzdrogen , TE. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsges , 2003 , pp. 197–200.

Görwitz , RJ ., Kruszon-Moran , D ., McAllister , SK . Les changements dans la prévalence de la colonisation nasale avec *Staphylococcus aureus* aux États-Unis, 2001 -2004. J Infect Dis J , 2008 ,Vol. 197 (9) pp. 1226 - 1234.

Graham , PL., Lin, SX., Larson, EL. A U.S. population - based survey of *Staphylococcus aureus* colonization. Ann. Intern. Med , 2006 , Vol. 144, pp. 318-325.

Gram, L., Bagge-Ravn, D., Ng, YY., Gymoese, P., Vogel, BF. Influence of food soiling matrix on cleaning and disinfection efficiency on surface attached *Listeria monocytogenes*. Food Control , 2007 , Vol .18 (10),pp. 1165 - 1171 .

Gross, M., Cramton, SE., Gotz, F., Peschel, A. Key role of teichoic acid net charge in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces. Infect. Immun , 2001 , Vol. 69, pp. 3423–3426.

Guobjoernsdottir , B., Einarsson ,H ., Thorkelsson , G. Microbial adhesion to processing lines for fish fillets and cooked shrimp: influence of stainless steel surface finish and presence of gramnegative bacteria on the attachment of *Listeria monocytogenes*. Food Technol Biotechnol, 2005, Vol 43, pp. 55–61.

Gutiérrez , TM . Antibiofilm Enzymes as an Emerging Technology for Food Quality and Safety. Buenos Aires, Argentina. Enzymes in Food Biotechnology, 2019, 324p.**Gutiérrez, D., Ruas-Madiedo, P., Martínez, B., Rodríguez, A., García, P.** Effective removal of staphylococcal biofilms by the endolysin LysH5. PLoS One , 2014 , Vol. 9 , pp.107307

Hajlaoui , H., Mighri , H., Noumi , E., Snoussi , M., Trabelsi , N., and Ksouri ,R. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum L.* essential oil: A high effectiveness against Vibriospp. strains. Food Chem Toxicol, 2010, Vol 48 (2),pp. 861–921.

Hamadi, F ., Latrache, H ., Mabrouki, M ., Elghmari, A ., Outzourhit, A ., Ellouali, M ., Chtaini, A. Effect of pH on distribution and adhesion of *Staphylococcus aureus* to glass. J Adhes Sci Technol , 2005 , Vol. 19,pp. 73-85.

Harper, D R . , Parracho , M R T H . , Walker , J ., Sharp , R ., Hughes , G . Antibiotics .2014, Vol. 3, pp.270–284.

Heilpflanzenlexikon , FD. Ein Leitfaden auf wissenschaftlicher Grundlage, 8. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsges , 2006 , Vol. 121 .

Holden ,MT ., Lindsay , JA ., Corton , C ., Quail , MA ., Cockfield , JD ., Pathak ,S . Genome sequence of a recently emerged, highly transmissible, multi-antibiotic- and antiseptic-resistant variant of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, sequence type 239 (TW). J Bacteriol , 2010 , Vol. 192 pp.888-92.

Hudson , JA. MICROBIOLOGICAL SAFETY OF MEAT , *Staphylococcus aureus* . Encyclopedia of Meat Sciences .Second Edition , 2014, PP. 376-381.

Iacumin, L., Manzano, M., Comi, G. Phage inactivation of *Listeria monocytogenes* on San Daniele dry-cured ham and elimination of biofilms from equipment and working environments. Microorganisms , 2016 , Vol. 4 , pp.4.

Ikeda , T ., Tamate , N ., Yamaguchi , K ., Makino , S I . Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H . *App Environ Microbiol* ,2005 ,Vol. 71 , pp. 2793 – 2795 .

JAMAL , D . Influence de stress environnementaux sur les propriétés physicochimiques de jeunes biofilms en cours de formation : Etude par spectroscopies vibrationnelles infrarouge-Raman et de force AFM. Th. Doctorat : Chimie. Université de Lorraine, 2015, pp. 32-34.

Jenul , C ., Horswill ,AR . Regulation of *Staphylococcus aureus* virulence. *Microbiol Spectrum* , 2018 , Vol. 6(1) , pp. 3- 0031.

Jing Zhou & Zhenwen Liu. The complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Cuminum cyminum*. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, Vol 5, pp. 1079–1080.

Jirovetz , L., Buchbauer , G., Stoyanova, AS., Georgiev , EV., Damianova , ST. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum L.*) seeds from Bulgaria that had been stored upto 36 years. *Int J Food Sci Technol*, 2005, Vol 40, 305p.

Johri , RK. *Cuminum cyminum* and *Carum carvi*: An update. *Pharmacogn Rev* , 2011 , Vol. 5(9) , pp. 63–72.

Jubelin, G., Vianney, A., Beloin, C., Ghigo, JM., Lazzaroni, JC., Lejeune, P., Dorel, C. CpxR/OmpR interplay regulates curli gene expression in response to osmolarity in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* , 2005 , Vol.187, pp. 2038-2049.

Kabak , B., Dobson , AD. Mycotoxins in Spices and Herbs: An Update. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2015.

Kaefer , CM., Milner , JA. The role of herbs and spices in cancer prevention. *J. Nutr. Biochem.* 2008, Vol 19, pp. 347–361.

Khalil , M A ., Sonbol , FL . enquête sur la formation de biofilms sur les lentilles oculaires de contact causés par *Staphylococcus aureus* résistants a la méthicilline . *Niger J Clin Pract* , 2014 , Vol. 17 , 6 , pp.776-784 .

Khardre, MA., Yousef, AE., Kim, JG. Microbiological aspects of ozone applications in food . a review. *J. Food. Sci* , 2001 Vol. 66 (9), pp. 12421252.

Référence bibliographiques

Kasnowski, MC, Mantilla , SPS., Oliveira , LAT., Franco, RM. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. 2010, Vol 15, pp. 1- 23.

Katsikogianni, M., Missirlis, YF. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. Eur Cell Mater , 2004 , Vol. 8,pp. 37-57.

Kavanaugh, NL., Ribbec, K. Selected antimicrobial essential oils eradicate *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus aureus* Biofilms. Appl. Environ. Microbiol , 2012 , Vol. 78 (11), 40574061.

Khan , MSA ., Ahmad , I ., Chattopadhyay , D . New Look to Phytomedicine , Advancements in Herbal Products as Novel Drug Leads . 1 edition . 2019 , pp. 203-236.

Kiedrowski, MR., Kavanaugh, JS., Malone, CL., Mootz, JM., Voyich, JM., Smeltzer, MS., Bayles, KW., Horswill, AR. Nuclease modulates biofilm formation in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS One , 2011 , Vol. 6, pp. 26714

Kluytmans , J ., van Belkum A ., Verbrugh , H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev , 1997 , Vol. 10 , pp.50520.

Kolait , H ., Melzig , MF. Kreuzkümmel, *Cuminum cyminum L.* – Zeitschrift für Phytotherapie 2015 , Vol. 36 , pp. 229–235

Kuda, T., Yano, T., Kuda, MT. Resistances to benzalkonium chloride of bacteria dried with food elements on stainless steel surface. LWT - Food Sci. Technol , 2008 , Vol. 41 (6), pp. 988-993.

Kuddus , M . Enzymes in Food Biotechnology . Production, Applications, and Future Prospects , 2019 , pp . 321-342

Küster , HJ. Kleine Kulturgeschichte der Gewürze. Ein Lexikon von Anis bis Zimt. München: C.H. Beck'sche Verlagsbuchhandlung , 2012

Lacobellis , NS ., Cantore , PL ., Capasso , F ., Senatore , F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum L.* and *Carum carvi L.* essential oils. J Agric Food Chem , 2005 , Vol. 53, pp. 57-61.

Référence bibliographiques

Lagrange, F., Reiprich, W., Hoffmann, M. CIP-cleaning and disinfection with ozone water. *Fleischwirtschaft* , 2004 , Vol . 84 (2), pp. 112114.

Lebeaux , D ., Ghigo , J M . Infections associées aux biofilms Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale . *médecine/sciences* 2012 ; 28 : 727-39.

Lecuyer ., Sigolene. , Rusconi ., Roberto. , Shen ., Yi , Forsyth ., Alison ., Vlamakis ., Hera. , Kolter ., Roberto ., Stone. , Howard A . Shear stress increases the residence time of adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* . *Biophysical journal* , 2011 ,Vol. 100 , 2 , pp. 341-350.

Lee ,A S ., de Lencastre , H ., Garau , J ., Kluytmans ,J ., Malhotra-Kumar , S ., Peschel , A .,Harbarth , S . Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* . *Nature Reviews Disease Primers* , 2018 , Vol. 4 .

Le Loir , Y ., Baron, F ., Gautier , M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res* , 2003 , Vol. 2 , pp. 63–76

Leeuwenhoek , AV . queleque obsarvation sur les animeaux dans microscopiques du rhizoctone du dents . *philos . trans* , 1684 , Vol. 14 , pp . 568-574 .

Leung , L Y . *Staphylococcus aureus* .*Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)* , 2014, Vol. 4 , pp. 379-380.

Leung , DYM ., Schlievert , PM. Staphylococcal and streptococcal superantigen exotoxins. *Clin Microbiol Rev* , 2013, Vol. 26 , pp.422–47.

Li, T., Mei, Y., He, B., Soleil, X., Li, J. La réduction de l'expression de facteur de virulence à médiation par détection de quorum et la formation de biofilm en *Hafnia alvei* en utilisant l'inhibiteur de la détection de quorum potentiel l-carvone. *Frontiers in Microbiology*, 2018, Vol. 9,pp. 3324.

Liebekea , M ., Lalk , M. *Staphylococcus aureus* metabolic response to changing environmental conditions – A metabolomics perspective . *International Journal of Medical Microbiology* , 2014 , Vol. 304 , pp. 222–229 .

Lim , TK. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants. Fruits.* Springer, 2013, pp. 19–27.

Lima , PG., Cabral , JPLG., Silva , TM., Esper , LMR., Gonzalez , AGM., Franco , RM. Formação de biofilmes de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga sorotipos O153: H25,

Référence bibliographiques

O113: H21 e O111: H8 em superfície de aço inoxidável e eficácia de sanitizante. Revista do Instituto Adolfo Lutz. 2015, Vol. 74, n. 2, pp. 134-139.

Lindsay , JA. Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. Int J Med Microbiol, 2010 , Vol. 300 , pp. 98-103

Lindsay , JA ., Moore , CE ., Day , NP ., Peacock ,SJ ., Witney ,AA ., Stabler , RA . Microarrays reveal that each of the ten dominant lineages of *Staphylococcus aureus* has a unique combination of surface-associated and regulatory genes. J Bacteriol ,2006 Vol. 188 pp. 669-76.

Lister, JL., Horswill, AR. *Staphylococcus aureus* biofilms: recent developments in biofilm dispersal. Front. Cell. Infect. Microbiol , 2014 , Vol. 4, pp. 178.

Liu , Y . , Zhang , J ., Ji , Y . Environmental Factors modulate biofilm formation by *Staphylococcus aureus* . Science progress , 2020 , pp. 1-14 .

Lodha, S., Mawar, R. Cumin wilt management – A review. J. of Spices and Aromatic crops, 2014 , Vol. 23 (2), pp. 145–155.

Ludwig, W., Seewaldt, E., Kilpper-Balz, R. The phylogenetic position of *Streptococcus* and *Enterococcus*. Journal of General Microbiology , 1985 , Vol .131, pp.543–51.

Machado, I ., Silva, LR ., Giaouris, ED ., Melo, LF ., Simões, M . Quorum sensing in food spoilage and natural-based strategies for its inhibition . Journal Pre-proofs , 2019 ,Vol. 127 .

Malachowa , N ., DeLeo , FR. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. Cell Mol Life Sci , 2010 , Vol. 67 pp. 305771

Malek , F . Bactéries sporulées et biofilms : un problème récurrent dans les lignes de production de lait reconstitué ou recombinaison pasteurisé . Can. J. Microbiol 2019 , Vol. 65.

Manasa Ravindra Walmiki & V. Ravishankar Rai. Cell Attachment Inhibition and Anti-biofilm Activity of *Syzygium aromaticum*, *Cuminum cyminum* and *Piper nigrum* Essential Oils Against Pathogenic Bacteria. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2017.

Manda , M., Manda , S. Cumin (*Cuminum cyminum L.*) Oils. PART | II Named Essential Oils, 2016, Vol 42, pp. 377_382.

Martin , E ., Lina , G ., Dumitrescu , O . *Staphylococcus aureus* . Encyclopedia of Food Microbiology, 2014 , Vol. 3 , pp. 501-507 .

Référence bibliographiques

- Mattick, A T., Hirsch, A.** Further observations on an inhibitory substance (NISIN) from lactic streptococci. *Lancet* ,1947 , Vol. 4 , pp.3.
- Mazmanian ,SK ., Ton-That , H., Schneewind , O.** Sortase-catalysed anchoring of surface proteins to the cell wall of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 2001;40:104957.
- Medeiros , ACAP .** Etude expérimentale de la formation des biofilms sous condition hydrodynamiques contrôles . th . doctorat : Mécanique des fluides , énergétique , procédés . université Grenoble Alpes , 2016 ,Vol. 16 .
- Meyer, R L.** Intra- and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 2015, Vol. 6 , pp.841
- Mizan, MF., Jahid, IK., Kim, M., Lee, KH., Kim, TJ., Ha, SD.** variabilité dans corrélats de formation de biofilm avec hydrophobicité et de détection de quorum parmi *Vibrio parahaemolyticus* isolé à partir des surfaces de contact avec les aliments et la distribution des gènes impliqués dans la formation de biofilm. *L'encrassement biologique*, 2016 , Vol. 32 (4), pp. 497-509.
- Montville , TJ ., Matthews , KR ., Kniel ,KE.** *Food Microbiology: An Introduction*, 3rd edn. New York: ASM Press , 2012.
- Morshedi , D., Aliakbari , F., Tayaranian , M., Fassihi , P.** Cuminaldehyde as the major component of cumin, a natural aldehyde with inhibitory effect on alpha synuclein fibrillation and cyto toxicity. *J. Food Sci*, 2015, Vol 80, pp. 2336-2345.
- Moreno-Castilla, C.** Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. *Carbon* , 2004 , Vol 42, pp.83-94.
- Mostafa, DM.,Abd El-Alim, SH ., Kassem, AA.** Nanoemulsions: A New Approach for Enhancing Phytonutrient Efficacy. *Nanotechnology Applications in Food*, 2017, pp. 107-127.
- Nadeem , M., Riaz , A.** Cumin (*Cuminum cyminum*) as a potential source of antioxidants. *Pak. J. Food Sci*, 2012, Vol 22, pp. 101–107.
- Nilsson, RE ., Ross, T ., Bowman, JP.** Variability in biofilm production by *Listeria monocytogenes* correlated to strain origin and growth conditions. *Int J Food Microbiol* , 2011 , Vol. 150, pp.14-24.

P Stoodley, K. Sauer, D.G. Davies, and J.W. Costerton. Biofilms as complex differentiated communities. Annual Review of Microbiology, 2002. Vol 56, pp. 187-209.

Pandey, S., Patel , MK., Mishra, A., Jha , B. In planta Transformed Cumin (*Cuminum cyminum L.*) Plants, Overexpressing the SbNHX1 Gene Showed Enhanced Salt Endurance. PLOS ONE. 2016, Vol 11 (7), pp, 1-18.

Parsek , MR ., Singh, PK . Bacterial biofilms : an emerging link to disease pathogenesis. Annual Review of Microbiologie , 2003 , Vol. 57 , pp.677-701 .

Pereira , RN ., Vicente , AA. Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. Food Research International , 2010 , Vol. 43 , pp.1936–1943.

Pérez-Martínez, I., Haas, D. Azithromycin inhibits expression of the GacA-dependent small RNAs RsmY and RsmZ in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother , 2011 , Vol. 55, pp. 399–3405.

Peter, KV. Handbook of Herbs and Spices, vol. I. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK, 2003, pp. 164–167.

Peng, JS., TSAI, WC., Chou, CC. Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent. International Journal of Food Microbiology, 2002 , Vol. 77, n. 1, p. 11-18.

Phillips, C.A. Bacterial biofilms in food processing environments: a review of recent developments in chemical and biological control. Int. J. Food Sci. Technol , 2016 , Vol. 51, pp. 1731–1743.

Prescott , LM., Harley , JP., Klein D. Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université. 2010.

Quecan, BXV., Santos, JTC., Rivera, MLC., Hassimotto, NMA., Almeida, FA., Pinto, UM. effet de la quercétine riches extraits d'oignon sur la détection de quorum bactérien. Frontiers in Microbiology, 2019 , Vol .10, pp. 867.

Rai, N., Yadav, S., Verma, A K., Tiwari, L., Sharma , R K. A monographic profile on quality specifications for a herbal drug and spice of commerce- *Cuminum cyminum L.* International Journal of Advanced Herbal Science and Technology , 2012 , Vol. 1 (1), pp. 1-12.

Référence bibliographiques

Rana, A., Kumar , V., Mirza, a ., Panghal A .,. Efficacy of cumin (*Cuminum cyminum l.*) As a bionutrient and its management. *Annals of biology*, 2018, Vol 34 (2), pp. 218-222.

Rebey, IB., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F., Marzouk, B. Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum L.*) seeds, *Ind. Crop. Prod* , 2012, Vol. 36, pp. 238–245.

Renner, LD ., Weibel , DB. Physicochemical regulation of biofilm formation. *MRS BULLETIN*, 2011, VOL 36, pp. 347- 355.

Rochex , A ., Lebeault , JM . Effects des nutriments sur la formation de biofilm et le détachement d'une souche *Pseudomonas putida* isolé à partir d'une machine à papier . *recherche sur l'eau* , 2007 ,Vol. 41 , 13 , pp .2885-2892.

Rosenbach, FJ. Mikro-organismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen. Bergmann, Weisbaden , 1884

Sauer , K ., Rickard , AH., Davies DG. Biofilms and biocomplexity. *American Society for Microbiology* , 2007 , Vol 2 , pp. 347-353.

Saviuc, CM., Drumea, V., Olariu, L., Chifiriuc, MC., Bezirtzoglou, E., Lazar, V. Essential oils with microbicidal and antibiofilm activity. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2015 , Vol. 16 (2), pp. 137151.

Sharman , M., Anand , SK. évaluation des biofilms en tant qu'élément essentiel du système HACCP pour l'alimentation / transformation laitière Industrie- un Cas. *Le contrôle des aliments*, 2002 , Vol. 13, pp. 469-477.

Sheng, GPHQ Yu, Li , XY. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnology Advances*, 2010.Vol 28(6), pp. 882-894.

Shia , X et Zhua , X . biofilm formation and food safety in food industrie . *trends in food science and technologie* . 2009 , Vol. 20 , pp . 407- 413 .

Silvestri, L.G., Hill, LR. Agreement between deoxyribonucleic acid base composition and taxonomic classification of Gram-positive cocci. *Journal of Bacteriology* ,1965 , Vol. 90,pp. 136–40.

Référence bibliographiques

Simoès, M ., Simoès, LC ., Vieira, M.J. A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-Food Sci Technol* , 2010 , Vol 43, pp.573-583.

Simon, SS., Sanjeev, S. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food Control* , 2007 , Vol. 18, pp. 1565–1568.

Singh , AK ., Parakash, P. , Achra, A . Standardization and classification of in vitro biofilm formation by clinical isolates of *Staphylococcus aureus* . *J Glob Infect Dis* , 2017 ,Vol. 9, 3 , pp . 93-101 .

Singh , PR ., Gangadharappa , H.V., Mruthunjaya , K . *Cuminum cyminum* – A Popular Spice: An Updated Review , *Pharmacogn J* , 2017 , Vol. 9(3) , pp. 292-301 .

Siow, HL ., Gan , CY. Extraction of antioxidative and antihypertensive bioactive peptides from *Parkia speciosa* seeds. *Food Chemistry*, 2013, Vol 141, pp. 3435- 3442.

Soltani , E. , Mortazavian , SMM . , Faghihi , S ., Akbari , GA . Non-deep simple morphophysiological dormancy in seeds of *Cuminum cyminum L* . *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* , 2019 .

Skogman, ME., Kanerva, S., Manière, S., Vuorela, PM., Fallarero, A. flavones comme Les inhibiteurs de quorum identifiés par criblage d'une plate-forme nouvellement optimisé en utilisant *Chromobacterium violaceum* que les bactéries reporters. *Molécules*, 2016 , Vol. 21 (9)

Sokunrotarak ,S., Jahid, KI., Ha, SD. Formation biofilm dans les industries alimentaires: Un problème de sécurité alimentaire. *Le contrôle des aliments* , 2013 ., Vol. 31 , pp. 572- 585.

Stackebrandt, E., Ludwig, W., Weizenegger, M. Comparative 16S rRNA oligonucleotide analyses and murein types of round-spore-forming bacilli and non-spore-forming relatives. *Journal of General Microbiology* ,1987,Vol. 133, pp. 2523–9.

Stephen , H ., Gillespie ., Hawkey PM . Principles and Practice of Clinical Bacteriology . Second Edition . John Wiley & Sons, Ltd, 2006 , pp 73-88.

Steven , Y L., Foley, A Y., Chen, S S ., Zervos , MJ . Molecular Techniques for the Study of Hospital-Acquired Infection .First Edition. John Wiley & Sons, Inc , 2011.

Stempel, N., Strehmel, J., Overhage, J. Potential application of antimicrobial peptides in the treatment of bacterial biofilm infections. *Curr. Pharm. Des* , 2015 , Vol.21, pp. 67–84.

Stewart , PS., Franklin , M. Physiological heterogeneity in biofilms. *Nature review microbiology*, 2008, Vol 6, pp. 199-210.

Su , S ., Yina , P ., Li , J ., Chena , G ., Wanga , Y ., Qua , D ., Li D , Xuea , X ., Luoa , X ., Li , M . In vitro and in vivo anti-biofilm activity of pyran derivative against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* . *J Infect Public Health* , 2019 , Vol. 9 .

Suzuki , N ., Ohtaguro , N ., i Yoshida , Y ., Hirai , M ., Matsuo ,H ., Yamada , Y ., Imamura , N ., Tsuchiya , T . A Compound Inhibits Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* from *Streptomyces* . *Biol. Pharm. Bull* , 2015 , Vol. 38(6) ,pp. 889–892.

Tang , YW. , Sussman , M ., Liu ,D., Poxton , I ., Schwartzman , J . *Molecular Medical Microbiology Book . 2nd Edition . Academic press* , 2015 , Vol 2, 2015, pp. 655-674 .

Thapaliya , D ., Forshey , BM ., Kadariya , J ., Quick, MK ., Farina , S ., O’ Brien , A ., Nair , R ., Nworie , A ., Hanson , B ., Kates , A ., Wardyn , S ., Smith , T C . Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one-year period in Iowa, USA .*Food Microbiology* , 2017 , Vol. 65 , pp. 122-129 .

Toté, K., Horemans, T., Berghe, D V., Maes, L., Cos, P. Inhibitory effect of biocides on the viable masses and matrices of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol* , 2010.

Touaitia , R. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. Th. Doctorat. UNIVRSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA, 2015, 6 p.

Trampuz, A., Widmer, AF. Infections associated with orthopedic implants. *Curr. Opin. Infect. Dis* , 2006 , Vol. 19, pp. 349–356.

Trouillet , S. Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Mémoire : Minister de l’enseignement supérieur et de la recherche école pratique des hautes études. 2011, pp. 102.

Uymaz Tazel , B ., Sanilibaza , P . a major concern in food industry , contamination reservoir : bacterial biofilm . *researchgate* , 2018 .

Van Houdt , R ., Michiels CW . Formation biofilm et l’industrie alimentaire , l’accent sur la surface externe des bactéries . *Journal of Applied Microbiology* , 2010 ,Vol. 109, 4, pp . 1117-1131.

Van Belkum , A ., Verkaik , NJ ., de Vogel , CP., Boelens , HA ., Verveer , J ., Nouwen , JL . Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. J Infect Dis , 2009 , Vol. 199 , pp.18206.

Vanzielegem, T ., Delmée , M. Les biofilms en milieu hospitalier : quels sont les enjeux pour l'hygiène hospitalière?. BULLETIN POUR LA PRÉVENTION ET LA MAÎTRISE DES INFECTIONS ASSOCIÉES AUX SOINS. 2020, vol. XXIV N°1.

Vázquez-Sánchez, D., Cabo, ML., Ibusquiza, PS., Rodríguez-Herrera, JJ. Biofilm-forming ability and resistance to industrial disinfectants of *Staphylococcus aureus* isolated from fishery products. Food Control , 2014 , Vol. 39,pp. 8–16

Vazquez-Sanchez, D ., Habimana, O ., Holck, A. Impact of food-related environmental factors on the adherence and biofilm formation of natural *Staphylococcus aureus* isolates. Curr Microbiol , 2013 , Vol. 66,pp. 110-121.

Vazquez-Sanchez, D., Lopez-Cabo, M., Saa-Ibusquiza, P., Rodríguez-Herrera, J J. Incidence and characterization of *Staphylococcus aureus* in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain). Int J Food Microbiol, 2012 ; Vol. 157(2), pp.286-296.

Vernozy - Rozand ,C ., Mazuy – Cruchaudet , C ., Bavai , C ., Richard , Y . Comparison of three immunological methods for detecting staphylococcal enterotoxins from food . Lett Appl Microbiol , 2004 , Vol. 39 , pp. 490 – 494

Vincenot , F., Saleh , M., Prévost , G. Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Rev Francoph Lab, 2008, Vol 407, pp. 61–9.

Voravuthikunchai , SP., Phongpaichit , S., Subhadhirasakul , S. Evaluation of antibacterial activities of medicinal plants widely used among AIDS patients in Thailand. Pharmaceut Biol, 2005, Vol 43(8), pp. 701-706.

Wang , H., Sodagari , M., Chen , Y., He , X., Newby , BMZ., Ju , LK. Initial bacterial attachment in slow flowing systems: Effects of cell and substrate surface properties. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. . 2011, Vol 87, pp. 415–22.

Wei , J., Zhang , X., Bi , Y., Miao , R ., Zhang , Z., Su , H. Anti-inflammatory effects of cumin essential oil 264.7 cells. Evidence-based complement. Alternat. Med, 2015, pp. 474-509.

Wertheim , HF., Vos , MC ., Ott , A V. , Belkum , A ., Voss , A ., Kluytmans , JA . Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus noncarriers. Lancet , 2004 , 364 , pp.7035.

Willey, JM., Sherwood, L., Woolverton, CJ., Prescott, LM., Willey, JM. Prescott's microbiology , 2011.

Winkelströter, L K., Teixeira, F B., Silva, E P., Alves, V F., de Martinis, E C. Unraveling microbial biofilms of importance for food microbiology. Microb. Ecol, 2014 , Vol .68,pp. 35–46.

Xihong , Z ., Fenghuan , Z. , Jun , W ., Nanjing , Z . Biofilm formation and control strategies of foodborne pathogens: food safety . perspectives RSC Adv, 2017, Vol. 7, pp. 36670–36683 .

Yang, Y., Mikš-Krajnik, M., Zheng, Q., Lee, S B., Lee, S C., Yuk, H G. Biofilm formation of Salmonella Enteritidis under food-related environmental stress conditions and its subsequent resistance to chlorine treatment. Food Microbiol , 2016 , Vol . 54, pp. 98–105.

Yuan, L., Sadiq, FA., Burmolle, M., Liu, T., He, G. Aperçus dans le lait bactérien l'altération avec un accent particulier sur le rôle des enzymes stables à la chaleur, les biofilms et la détection de quorum. Journal de protection alimentaire, 2018 ,Vol. 81 (10),pp. 1651-1660.

Yves, LE LOIR, and GANTIER Michel. *Staphylococcus aureus*. Lavoisier, 2009.

Zopf, W. Die Spaltpilze, 3rd edn. Edward Trewendt, Breslau. 1885.

Zottola , EA ., Sasahara KC. biofilms Microbiol dans la transformation des aliments Industrie- devraient-ils être une préoccupation. International Journal of Food Microbiology , 1994 , Vol . 23 , pp. 125-148.