

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement

« LAMAABE »

Mémoire de MASTER

Présenté par

Mlle KEBIRI Nabahat

Mme TIGHEDDOUINE Aïcha

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

Option : Microbiologie et contrôle de qualité

**Détection de la formation du biofilm de *Staphylococcus aureus*
isolée de tubes endotrachéales par différentes techniques**

Soutenu le 01/07/2019

Devant le jury

Pr. Hassaine H.	Professeur	Président	U. de Tlemcen
Dr. Malek F	MCA	Examinatrice	U. de Tlemcen
Dr. Kara-Terki I.	MCB	Examinatrice	U. de Sidi Bel Abbas
Dr. Bellifa S	MCB	Encadreur	U. de Tlemcen

Année Universitaire : 2018-2019

Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **Allah** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la sagesse, la volonté, la force, la patience d'accomplir ce modeste travail et l'audace pour dépasser toutes les difficultés.*

*Ensuite, nous tenons à remercier **Mme HASSAINE Hafida**, Professeur à l'université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen et Directrice de laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro- Alimentaire au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE), de nous avoir permis et donné l'occasion extraordinaire de réaliser ce travail au sein du laboratoire.*

*Un grand merci à notre encadreur **Mme BELLIFA Samia** épouse **BENAMAR** Maitre Assistante de classe B au département de biologie, pour sa confiance, sa patience, ses orientations et surtout ses judicieux conseils, ainsi pour son soutien constant tout au long de la période de recherche pour développer ce travail. Elle s'est considérablement investie dans la réussite de ce mémoire et les résultats obtenus tiennent essentiellement à son accompagnement.*

*Nous adressons aussi nos remerciements à **Mr BENAMAR Ibrahim**, pour ses multiples conseils et pour avoir eu la patience de répondre à nos innombrables questions.*

*Nous tenons également remercier **Mme MALEK Fadila** Maître de conférences de classe A université de Abou Bekr Belkaid – Tlemcen et **Mme KARA TETKI Ibtissem** maitre de conférences de classe B université de Sidi Bel-Abbès pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.*

Enfin, nous diéserons remercier très sincèrement toutes nos familles et nos amis pour leur encouragements et leur soutien inestimable.

Nabahat et Aicha

Dédicace

Je dédie ce modeste travail, fruit de mes études...

A mes chères parentes :

*Le meilleur homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et mon bonheur, celui qui s'est toujours souffré pour me voir réussir, **à toi mon père Lahcene.***

*La lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, la source de mes efforts, mon bonheur et ma vie, qu'elle est toujours sacrifiée pour me voir réussir, **à toi ma mère Fatima.***

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Allah, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

***A mon cher frère Mohamed,** pour l'attention, l'amour et l'aide qu'il m'est apporté. Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Qu'Allah te protèges pour nous.*

***A mon encadreur Mme BELLIFA Samia,** merci beaucoup de m'avoir accepté dans votre équipe de recherche, et merci pour tout.*

***A ma famille,** mes oncles et mes tantes, cousins et cousines, qui m'ont toujours encouragé et me donnent l'amour.*

***A mon amie et binôme Aicha,** qu'Allah te garde le meilleur pour l'avenir.*

***A tous mes amis,** qu'on a passé des merveilleux souvenir durant ces années d'études et qui m'ont toujours soutenu et encouragé. Je vous souhaite plus de succès.*

A tous ceux que j'aime.

Nabahat

Dédicace

En ce moment particulier dans ma vie, Je tiens à dédier ce modeste travail :

Mes chers parents

Pour leur encourage tout au long de mes études. Que dieu tout puissant vous garde et vous procure, bonheur et longue vie santé pour que vous demerier le flambeau illuminant mon chemin

Mon marie

Pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

A mes frères

Ahmed-Aboubaker, à mes sœurs

Alya, Téma, Nassima, Romaiassa ; pour leur tendresse, toute l'affection qu'ils m'ont donnée et pour leurs précieux encouragements.

A mon binôme

KEBIRI Nabahat qui est pour moi une vraie sœur.

A tous mes amies et mes copines

A tous mes collègues de promotion

A toute la famille MEKRI, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Je vous dis merci

Aicha

Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	01
Première partie : Synthèse bibliographique	03
Chapitre 1 : Les infections associées aux soins	04
Introduction.....	04
1. Définition d'un dispositif médical.....	04
1.1. La sonde d'intubation trachéale.....	04
1.2. Les caractéristiques de la sonde d'intubation trachéale.....	05
2. Les infections associées à la présence d'une sonde endotrachéale.....	05
3. Les facteurs de risque des infections associées aux soins aux sondes endotrachéales.....	05
4. Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique.....	06
Chapitre 2 : <i>Staphylococcus aureus</i>	06
1. Taxonomie.....	06
2. Morphologie et structure.....	06
3. Croissance.....	07
4. Les facteurs de virulences.....	08
4.1. Les toxines.....	08
4.1.1. Des toxines à action membranaire ou pore-forming-toxins (PFTs).....	08
4.1.2. Les toxines à activité protéolytique « Les épidermolysines ».....	08
4.1.3. Les Superantigènes.....	08
4.2. Les enzymes.....	08
4.3. Les protéines de surface ou facteurs d'adhérence (MSCRAMM).....	09
4.4. Formation du biofilm.....	09
5. Les infections causées par <i>staphylococcus aureus</i>	09
Chapitre 2 : Biofilm bactérien	09
1. Introduction.....	09

2. Définition.....	10
3. Les étapes de la formation d'un biofilm.....	10
3.1. Adhésion réversible.....	11
3.2. Adhésion irréversible.....	11
3.3. Formation de microcolonies.....	11
3.4. Maturation du biofilm.....	11
3.5. Dispersion du biofilm.....	11
4. Les facteurs favorisant la formation du biofilm.....	12
4.1. Les caractéristiques de la surface.....	12
4.2. Les caractéristiques du milieu.....	12
4.3. Les propriétés de cellule.....	12
5. Elimination de formation de biofilm par des substances naturelles.....	12
5.1. La nigelle.....	13
Deuxième partie : Matériel et méthodes.....	15
1. Lieu d'étude	16
2. Prélèvements et Isolement	16
3. Identification	17
4. Conservation des souches.....	17
5. Détection et évaluation de la formation du biofilm <i>in vitro</i>	17
5.1.Méthode de plaque de culture de tissus (TCP).....	17
5.2. Technique de Rouge Congo Agar.....	18
5.3. Effet du glucose et du saccharose sur la formation de biofilm par la technique (TCP).....	19
6. Activité anti-biofilm de l'huile de nigelle.....	19
7. Activité de l'huile de nigelle sur un biofilm préformé.....	19
Troisième partie : Résultats et discussion	21
1. Prélèvements	22
1.1. Résultats de prélèvements.....	22
1.2. Répartition des souches.....	22
2. Caractères bactériologiques des souches <i>S. aureus</i>	23
2.1. Aspect macroscopique.....	23
2.2. Caractères biochimiques.....	24

3. Détection et évaluation de la formation du biofilm des <i>S. aureus</i> isolées de sonde endotrachéale	24
3.1. Techniques de plaque de culture 96 puis (TCP)	24
3.2. Technique de Rouge Congo Agar.....	26
3.3. Effet du glucose et du saccharose sur la formation du biofilm par la technique TCP.....	27
4. Activité anti-biofilm de l'huile de nigelle.....	29
5. Activité de l'huile de nigelle sur un biofilm préformé.....	30
Conclusion.....	32
Références bibliographiques	34
Annexes	43

Liste des abréviations

BHIB : Bouillon Cœur cerveau

CBA : Columbia Blood Agar

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

DO : Densité Optique

IAS : infections associées aux soins

MSA : Mannitol-Salt-Agar

MSCRAMM : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule

OMS : Organisation mondiale de santé

PAVM : Pneumopathie Acquisée Sous Ventilation Mécanique

PFTs : Pore forming toxins

PNPO : Pneumonie nosocomiale post-opératoire

PVC : Chlorure de polyvinyle

PVL : Leucocidine de Pantan et Valentine

RCA : Rouge Congo Agar

SSSS : Staphylococcal Scalded Skin Syndrome

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

TCP : Plaque de Culture de Tissus

TSA : Tryptic Soy Agar

TSST : Toxic shock syndrome toxin

Listes des figures

Figure 01 : Micrographie électronique à balayage colorisée de <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline sur la surface d'un pansement de plaie. Grossissement x 18,501.....	07
Figure 02 : Coupe horizontale représente la formation du biofilm sur la sonde endotrachéale (Palmer, 2010)	10
Figure 03 : Schéma représente les différentes étapes de la formation du biofilm (Lebeaux et Ghigo, 2012)	10
Figure 04 : Fleur de la plante <i>Nigella Sativa</i>	13
Figure 05 : Graines de <i>Nigella Sativa</i>	14
Figure 06 : L'extrémité distale dans 5ml de sérum physiologique.....	16
Figure 07 : Un traitement avec l'ultrason.....	16
Figure 08 : Détection et lecture de biofilm par méthode TCP.....	18
Figure 09 : Coupures de la partie distale du sonde endotrachéale.....	20
Figure 10 : Un prélèvement d'une sonde endotrachéale.....	22
Figure 11 : Répartition des souches isolées du sonde endotrachéale au niveau de service réanimation.....	22
Figure 12 : Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur gélose de Chapman.....	23
Figure 13 : Identification de <i>S. aureus</i> par la galerie API Staph.....	24
Figure 14 : Formation du biofilm par la technique TCP.....	25
Figure 15 : Quantification des biofilms formés par <i>S. aureus</i> par la TCP.....	25
Figures 16 : Production de slime chez les <i>S. aureus</i> sur milieu RCA	26
Figure 17 : Formation du biofilm par <i>S. aureus</i> par la TCP avec des différentes concentrations de Saccharose et Glucose.....	28
Figure 18 : Résultats de dénombrement de l'activité anti-biofilm de l'huile de nigelle sur <i>S. aureus</i>	29

Figure 19 : Résultats de dénombrement de l'activité de l'huile de nigelle sur un biofilm préformé sur les deux souches testées30

Listes des tableaux

Tableau 01 : Résultats de la technique en microplaque TCP.....	25
Tableau 02 : Résultats de TCP avec supplément (1%, 2% Saccharose) et (1%, 2% Glucose).....	27

INTRODUCTION

Les infections associées aux soins représentent aujourd'hui un grand problème de santé publique préoccupant à l'échelle mondiale. Elles sont liées à une lourde morbidité mais également à une mortalité non négligeable (**Hamza, 2010**).

Parmi les infections les plus courantes dans le milieu hospitalier, les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) qui sont les plus fréquentes et qui représente la première cause de la mort (**Trouillet et al., 2013**). La physiopathologie de ces infections est étroitement liée à la constitution d'un biofilm sur les sondes endotrachéales (**Espinasse et al., 2010**).

Le biofilm a été directement associé aux infections liées aux dispositifs médicaux puisque ce mode de vie assure la survie des bactéries pathogènes dans l'environnement hospitalier en lui procurant une protection contre l'action des agents antimicrobiens ainsi que les défenses immunitaires du patient (**Marti et al., 2011**).

S. aureus est l'une des bactéries associées à la formation du biofilm à la surface des dispositifs médicaux. Elle est responsable des infections chroniques et aiguës (**Liesse Lyamba, 2012**).

Pendant les dernières années, les chercheurs utilisent des extraits des plantes pour inhiber les mécanismes de virulences et lutter contre les agents pathogènes (**Lattab, 2018**).

L'huile essentielle est un moyen de lutte contre les infections nosocomiales et un moyen pour limiter le développement microbien [(**De Billerbeck, 2007**); (**Pibiri, 2006**)].

Dans ce contexte et en tenant compte du pouvoir pathogène de *S. aureus*, cette présente étude vise :

- L'isolement des souches de *S. aureus* à partir de sondes endotrachéales.
- Détecter et évaluer la capacité des *S. aureus* isolées à former un biofilm par différentes techniques.
- Etudier l'effet de l'huile de nigelle sur la forme planctonique et la forme biofilm de *S. aureus*.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Les infections associées aux soins

Introduction

Les infections associées aux soins (IAS), reconnues à travers le monde comme un problème de santé publique, sont à l'origine d'un accroissement significatif de la mortalité, de la morbidité et du coût de prise en charge des patients (**Njall *et al.*, 2013**).

Une infection est dite associée aux soins (IAS) si elle survient au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'entre 5 et 12 % des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins (IAS), dont plus de 60 % sont associées à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgical (**Espinasse *et al.*, 2010**).

En effet l'implantation temporaire d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale est associée à un risque infectieux non négligeable (**Treter et Macedo, 2011**).

1. Définition d'un dispositif médical

Un dispositif médical est tout instrument, appareil, équipement, matière, produit, à l'exception des produits d'origine humaine, ou autre, y compris les accessoires et logiciels nécessaires au bon fonctionnement de celui-ci, destiné par le fabricant à être utilisé chez l'homme à des fins de santé comme par exemple la sonde endotrachéale (**Gazengel et Orecchioni, 2013**).

1.1. La sonde d'intubation endotrachéale

Toute intervention chirurgicale longue impose la mise en place d'une sonde d'intubation endotrachéale (intubation endotrachéale) afin d'initier la ventilation mécanique et de protéger les voies aériennes au cours de l'anesthésie générale. La sonde d'intubation endotrachéale multiplie de 6 à 20 le risque de développer une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) [(**Levine *et al.*, 1991**); (**Ramirez *et al.*, 2007**); (**Pneumatikos *et al.*, 2009**)].

L'intubation trachéale a été introduite en réanimation dans les années 1950 en Europe lors de l'épidémie de poliomyélite. Elle a remplacé progressivement la trachéotomie première.

L'intubation est une technique de base en réanimation permettant une connexion étanche avec la trachée en vue d'effectuer une ventilation artificielle par insufflation.

1.2. Les caractéristiques de la sonde endotrachéale

Les sondes d'intubation les plus utilisées à l'heure actuelle sont en chlorure de polyvinyle (PVC) ou plus rarement en silicone. Elles sont à usage unique, stérile.

La longueur de la sonde augmente avec l'augmentation du diamètre interne, elle varie de 14 à 36cm et l'épaisseur de la paroi de la sonde peut varier de 0,16 à 2,3mm.

Le plastique utilisé est thermosensible. La sonde se compose d'un tube de diamètre standardisé appelé slip- joint et d'un ballonnet utilisé à basse pression (**Sanogo et al., 2007**).

2. Les infections associées à la présence d'une sonde endotrachéale

La présence de la sonde endotrachéale est un facteur important du développement de la PAVM, car elle modifie l'anatomie du larynx, provoque des lésions du système mucociliaire et sert de point d'entrée pour les microorganismes dans les voies respiratoires inférieure (**Pinciroli et al., 2013**).

Le biofilm est considéré comme le nouveau paradigme de l'infection, notamment associé aux dispositifs médicaux. La présence de la sonde endotrachéale favorise sans aucun doute la colonisation microbienne, contribuant globalement au développement du biofilm, ce qui peut expliquer la survenue de l'infection (**De Souza et al., 2014**).

3. Les facteurs de risque des infections associées aux soins aux sondes endotrachéales

Les facteurs de risque contribuant à l'altération des mécanismes de défense, ceux à l'origine de l'acquisition de bactéries multirésistantes et ceux aggravant la colonisation respiratoire ou gastrique (**Espinasse et al., 2010**).

Les facteurs non modifiables : liés au patient :

- Les âges extrêmes
- Les comorbidités associées (pathologie pulmonaire chronique, tabagisme, obésité, ...)
- Les troubles de la conscience
- Une dénutrition préalable à l'admission
- Un reflux gastro-œsophagien
- L'altération des réflexes du carrefour oropharyngé
- L'immunodépression

Les facteurs modifiables, liés à la prise en charge médicale sont essentiellement :

- La sonde endotrachéale, la sonde nasogastrique, la sédation et la position déclive du patient ;
- L'usage d'équipements de ventilation mal désinfectés ;
- L'alcalinisation gastrique, l'administration préalable d'une antibiothérapie prolongée, l'aggravation de la dénutrition ; et la non-observance de la prévention de la transmission croisée

4. Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique

Une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) correspond à « toute pneumonie associée aux soins, survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine, soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéale ou d'une trachéotomie, soit de manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial ou d'un autre procédé, dans les 48 heures précédant la survenue de l'infection » (Espinasse *et al.*, 2010).

Chapitre 2 : *Staphylococcus aureus*

1. Taxonomie

Selon la 9ème édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC, dans le phylum des firmicutes.

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Staphylococcaceae

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus*

2. Morphologie et structure

S. aureus est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas, souvent qualifiés de grappes de raisin (Figure 01).

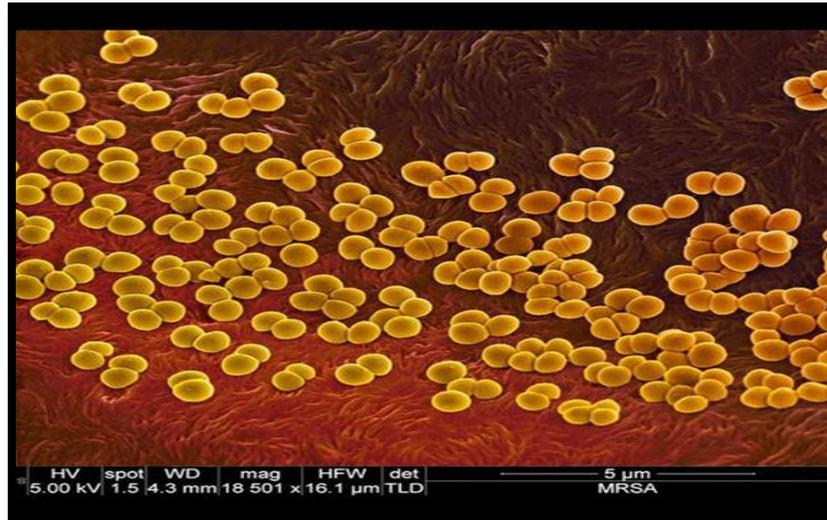


Figure 01 : Micrographie électronique à balayage colorisée de *S. aureus* résistant à la méticilline sur la surface d'un pansement de plaie. Grossissement x 18,501 (Accarias, 2014)

D'un point de vue macroscopique, cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de « staphylocoque doré ». Ces cocci mesurent de 0,5 à 1,5µm de diamètre, sont immobiles, non sporulés et positifs à la coloration de Gram. Comme chez la majorité des bactéries Gram positives, l'enveloppe de *S. aureus* est composée d'une seule membrane plasmique recouverte d'une paroi épaisse riche en peptidoglycane et en acides téichoïques. La plupart des isolats infectieux possèdent également une capsule polysaccharidique externe contenant divers facteurs de virulence et permettant le sérotypage des souches (Accarias, 2014).

3. Croissance

In vitro, *S. aureus* est une bactérie non-exigeante. En effet, en plus d'être aéroanaérobie facultative, elle est facilement cultivable en milieu gélosé classique tel que CBA (Columbia Blood Agar), TSA (Tryptic Soy Agar) ou BHI (Brain Heart infusion), ainsi que dans les milieux liquides correspondants (Vitko et Richardson, 2013). La gélose de Chapman (ou MSA pour Mannitol-Salt-Agar) peut être utilisée comme milieu sélectif différentiel pour l'identification de *S. aureus* qui présente un caractère halophile ainsi que la capacité à fermenter le mannitol. *S. aureus* se développe entre 10 et 42°C avec une température optimale de 37°C et un pH compris entre 7,4 et 7,6 (Couture, 1990).

Les colonies peuvent être observées après 24h d'incubation. Elles sont opaques, de pigmentation jaune-doré, ont un aspect circulaire de 2 à 3 millimètres de diamètre ainsi qu'une surface convexe lisse et brillante.

4. Les facteurs de virulence

Les facteurs de virulence identifiés sont nombreux chez les staphylocoques. Les staphylocoques ont des facultés d'adhésion aux structures inertes (corps étrangers, prothèses) et de production d'un biofilm qui est le principal facteur de virulence de ces bactéries (**Burin Des Rozier, 2002**).

4.1. Les toxines

Les espèces *S. aureus* sont classées en trois classes selon leurs structures et activités biologiques : les superantigènes, les toxines à activité protéolytique, les toxines formant des pores :

4.1.1. Des toxines à action membranaire ou pore-forming-toxins (PFTs)

Ces toxines sécrétées par la bactérie sous forme de facteurs lipidiques ou protéiques formant des pores au niveau de la membrane cellulaire de l'hôte infesté.

Selon la nature des PTFs sécrétés, les facteurs lipidiques ou protéiques interviennent pour permettre l'interaction de ces toxines avec les membranes de leurs cibles cellulaires : l'alpha-toxine, la bêta-toxine humaine, la delta-toxine, la leucocidine de Pantan et Valentine (PVL), l'hémolysine gamma (**Davido, 2010**).

4.1.2. Les toxines à activité protéolytique « Les épidermolysines »

Les épidermolysines ou appelé autrement les toxines exfoliatines « ET » sont responsables du syndrome de la peau ébouillantée en Anglais « staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) » (**Ladhani, 2003**).

4.1.3. Les Superantigènes

Les Superantigènes Staphylococciques causent le syndrome du choc toxique staphylococcique (TSST1), mais aussi les intoxications alimentaires par les entérotoxines (**Fomba, 2006**).

4.2. Les enzymes

Les staphylocoques produisent de nombreuses enzymes comme des protéases, des lipases, des hyaluronidases qui lisent les tissus et peuvent faciliter l'extension de l'infection aux tissus adjacents : La coagulase, La désoxyribonucléase thermostable (**Kara Terki, 2014**).

4.3. Les protéines de surface ou facteurs d'adhérence (MSCRAMM)

Les protéines de surface jouent un rôle dans la capacité du staphylocoque à coloniser les tissus en se fixant aux cellules et à la matrice extracellulaire (**Planchon, 2006**).

Ces protéines sont : la protéine A (Spa), La protéine de liaison au collagène (Cna), les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB), La protéine de liaison au fibrinogène (Clf), La protéine de liaison à l'élastine (EbpS) (**Eveillard, 2007**).

4.4. Formation de biofilm

La formation d'un biofilm de *S. aureus* est un processus qui se déroule en deux phases. La première phase consiste en l'attachement initial des cellules sur une surfaces, et la seconde à la multiplication, maturation et multiplication des cellules bactériennes (**Otto, 2008**).

5. Les infections causées par *Staphylococcus aureus*

Les infections et les maladies causées par *Staphylococcus aureus* sont :
Infections pulmonaires : Embolie et Aspiration, Infections de la peau et des tissus mous : Furoncles, abcès, Infections des plaies (traumatiques, chirurgicales), Cellulite et Impétigo (aussi causé par les Streptocoques), Bactériémies (souvent avec des abcès métastatiques), Endocardites, Infection du système nerveux central : Abcès du cerveau, Méningite-rare, Abcès épidual, Muscles et squelette : Ostéomyélite, Arthrite, Tractus génito-urinaire : Abcès rénal, Infection du tractus urinaire inférieur, Maladies provoquées par des toxines : Syndrome du choc toxique, Intoxications alimentaires (gastroentérites) (**Schaechter et al., 1999**).

Chapitre 3 : Le biofilm bactérien

1. Introduction

L'idée que les bactéries croissent préférentiellement sur des surfaces a été avancée à intervalles réguliers au cours des 150 dernières années (**Costerton, 1999**). Parallèlement, certains microbiologistes ont constaté au microscope optique que les bactéries planctoniques poussaient différemment après avoir adhéré à une surface et initié la formation d'un biofilm. Les termes de bactéries sessiles et planctoniques décrivent des micro-organismes respectivement adhérents à une surface et libres dans une suspension. La surface d'adhésion des organismes sessiles peut être abiotique (les matériaux inertes) ou biotique (les tissus ou les cellules vivantes) (**Dune, 2002**).

2. Définition

Le biofilm est défini comme un ensemble des cellules microbiennes ou une communauté plurimicrobienne entourée d'une matrice polymérique autoproduite et pouvant contenir des composants de l'hôte, Cette matrice représente jusqu'à 85% du volume total du biofilm. Cette forme vivante et dynamique représente 99% de leur mode de vie dans la nature à l'opposition de la forme planctonique qui représente le reste [(Filloux *et al.*, 2003); (Phillips *et al.*, 2011)] Les biofilms des sondes endotrachéales constitue un réservoir bactérien capable d'infecter le parenchyme pulmonaire (Monsel *et al.*, 2018) (Figure 02).

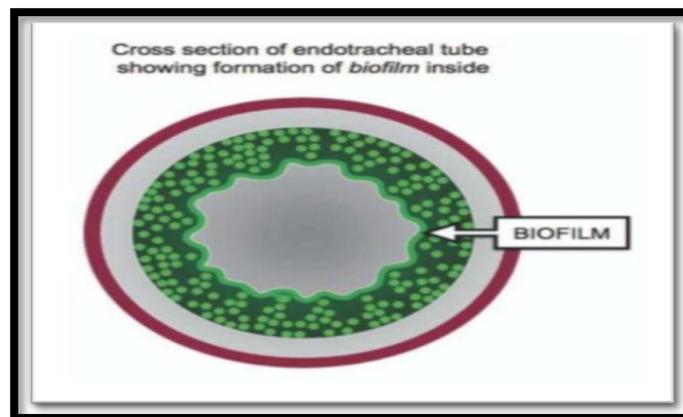


Figure 02 : Coupe horizontale représente la formation du biofilm sur la sonde endotrachéale (Palmer, 2010)

3. Les étapes de formation d'un biofilm

La formation se déroule en plusieurs étapes (Tremblay *et al.*, 2014) (Figure 03) :

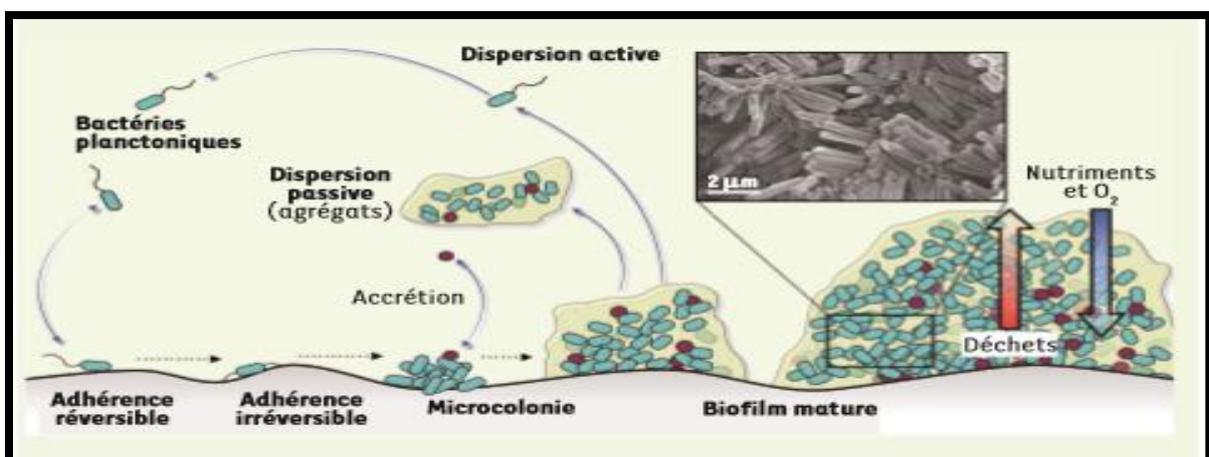


Figure 03 : Schéma représente les différentes étapes de la formation du biofilm (Lebeaux et Ghigo, 2012)

3.1. Adhésion réversible

Dans cette étape, l'interaction initiale peut être transitoire et réversible à cause de faibles interactions entre la bactérie et la surface, celle-ci est appelé adhésion (**Khattoon et al., 2018**). L'adhérence initiale d'une bactérie sur une surface est conditionnée par ses caractéristiques physicochimiques (hydrophobie et charge électrostatique) (**Lebeaux et al., 2016**).

3.2. Adhésion irréversible

L'adhésion devient irréversible grâce à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation au support. Dans ce cas, des interactions fortes s'établissent entre la bactérie et la surface avec des liaisons de type hydrophobe. La synthèse des EPS, qui débute dès les premières étapes d'adhésion, se poursuit pendant la maturation du biofilm (**Van Houdt et Michiels, 2005**).

3.3. Formations de microcolonies

La formation de microcolonies va couvrir toute la surface ou une partie selon les propriétés de surface des bactéries et des matériaux [(**Costerton et al., 1999**); (**Roux et al., 2006**)].

3.4. Maturations du biofilm

Les bactéries synthétisent un exopolysaccharide et d'autres composants de la matrice polymérique (**Tremblay et al., 2014**).

Le biofilm a une croissance énorme entraînant une augmentation importante de l'épaisseur pour former un film hétérogène en trois dimensions (**Sauer et al., 2002**).

Dans cette structure tridimensionnelle, des canaux sont formés qui permettent la circulation des nutriments et de l'oxygène et la libération des produits résultant du métabolisme bactérien (**Costerton et al., 1999**).

3.5. Dispersion du biofilm

C'est une étape essentielle du cycle de vie des biofilms contribuant à la prolifération biologique, à la survie bactérienne et à la transmission de la maladie (**Kaplan, 2010**).

Ce qui est important dans le développement de la composition de la biomembrane, car c'est le mécanisme par lequel les bactéries se développent d'une zone du corps à une autre, permettant ainsi la propagation de l'infection [(**Kaplan, 2010**); (**Khattoon et al., 2018**)].

4. Les facteurs favorisant la formation du biofilm

La formation d'un biofilm est un phénomène complexe, sous l'influence de nombreux facteurs : caractéristiques du substrat sur lequel les bactéries vont se fixer, forces s'exerçant dans le milieu, caractéristiques du milieu et propriétés de la surface des cellules (**Donlan, 2002**).

4.1. Les caractéristiques de la surface

N'importe quel matériau en contact avec un fluide contenant des bactéries est un support potentiel pour la formation d'un biofilm. La rugosité, les propriétés chimiques d'une surface et la présence préalable de films protéiques influent sur l'attachement des bactéries à cette surface et à la formation d'un biofilm (**De Chalvet et De Rochemonteix, 2009**).

4.2. Les caractéristiques du milieu

La température, le PH, hydrodynamiques du fluide, concentration en certains cation, concentration en nutriment, source de carbone, concentration en oxygène, en fer, osmolarité..., sont des facteurs importants dans l'adhésion des bactéries (**Mahami et Adu-Gyamfi, 2011**).

4.3. Les propriétés de cellule

L'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence de fimbriae et de flagelles, et la production d'exopolysaccharide influencent l'attachement des bactéries sur une surface. L'hydrophobicité d'une surface est importante dans l'adhésion des micro-organismes à cette dernière. Moins les matériaux sont polarisés, plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes. (**Donlan, 2002**).

5. Elimination de formation de biofilm par des substances naturelles

Aujourd'hui la résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique. Les bactéries dans un biofilm sont plus résistantes à divers traitements antimicrobiens. Cette résistance résulte toujours de l'incapacité de l'antibiotique à agir sur sa cible, du fait de la réaction des bactéries vis-à-vis de l'antibiotique (**Bousseboua, 2005**).

Pendant plusieurs années, il est bien connu que les plantes ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour guérir les maladies infectieuses. Au cours des dernières années les études de recherches signalé la possibilité d'utilisation des extraits de plantes pour lutter contre les agents pathogénèse (**Kalia, 2013**).

Les huiles essentielles ou huiles volatiles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires, bio synthétisées par les plantes par hydro distillation ou par expression mécanique, sont très efficaces contre les phytopathologies causées par le microorganisme, possède un rôle antibactérien qui ont n'été en évidence en 1881 par Delacroix (**Guinoiseau, 2010**).

5.1. La nigelle :

La nigelle est un petit genre de plantes herbacées dans la famille renonculacées, comprend 14 espèces. Elle a été trouvée sur ta tombe de Toutankhamon et considérée par les Egyptien de l'antiquité comme une panacée (**Kokoska, 2011**).

La nigelle riche en huile essentielle de l'extrait pour cela elle fait partie du médecin traditionnelle prophétique, le prophète Mohamed satisfaction et salut de Dieu sur lui, avait dit : « Soignez-vous en utilisant la graine noire c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ». Pour cette raison les musulmans s'intéressèrent à cette graine (**Meziti, 2009**).

Nom scientifique : *Nigella sativa*

Noms communs : cumin noir, nigelle cultivée.

Classification botanique : famille des renonculacées (Ranunculaceae).

Hauteur : 20 cm à 70 cm.

Couleurs des fleurs : Blanc, Rose, Violet, Bleu.

Exposition souhaitée : Ensoleillée.

Type de sol : Sableux, Sec, Drainé, Acide.

Période de plantation : Mars, Avril, Mai.

Période de floraison : Juin, Juillet, Août, Septembre.

Feuillage : Caduc.

Entretien : Arrosage modéré, facile d'entretien (**Minker, 2013**) (Figure 04).



Figure 04 : Fleur de la plante *Nigella Sativa*

Le fruit est une grande capsule composée de cinq follicules, chacun contenant de nombreuses graines de forme triangulaire, devenant noires pendant le mûrissement, la graine mesure environ 2,5 à 3 mm.

Au printemps et après tout risque de geler les graines sont semées sous une exposition ensoleillée sur une zone espacée, la nigelle est peu exigeante, elle se ressème d'elle-même si les graines seront laissées sur la plante (heiss *et al.*, 2011) (Figure 05).



Figure 05 : Graines de *Nigella Sativa*

MATERIEL ET METHODES

1. Lieu d'étude

Notre étude a été menée au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de Tlemcen.

2. Prélèvements et isolement

Durant une période de 2 mois, 50 sondes endotrachéales ont été soigneusement prélevés de patients hospitalisés plus de 48 heures au service de réanimation du CHU de Tlemcen, dans des conditions d'asepsies. Les sondes sont placées individuellement dans des tubes en verre stériles. Les échantillons sont transportés au laboratoire en glacière et leur analyse a été aussi rapide que possible. Selon la technique quantitative de **Brun Buisson., (1987)** l'extrémité distale est coupée puis mise dans un tube contenant 5ml de sérum physiologique (Figure 06). Après un traitement avec l'ultrason (Figure 07) et un passage au vortex pendant 1minute, un volume de 0,1ml est ensemencé par étalement en surface de la gélose Chapman. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 48 heures.



Figure 06 : L'extrémité distale dans 5ml de sérum physiologique



Figure 07 : un traitement avec l'ultrason

3. Identification

L'identification des souches est contrôlée après vérification de leur pureté par :

- L'étude des caractères macroscopiques (aspects des colonies sur milieux gélosés).
- Identification par galerie API 20 Staph : La galerie API 20 Staph est un système standardisé pour l'identification des staphylocoques, elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Biomérieux, 2010**).

4. Conservation des souches

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique :

- **Gélose nutritive inclinée** : c'est une technique de conservation à court terme. Une fois que les tubes sont ensemencés et placés dans l'étuve à 37°C pendant 24h, ils sont conservés dans le réfrigérateur à 4°C (Figure 08).
- **Le glycérol** : c'est une technique de conservation à long terme. Elle consiste à l'ajout du glycérol aux suspensions bactériennes. Le glycérol est un cryoprotecteur permettant d'éviter au maximum les altérations cellulaires dues au refroidissement.

5. Détection et évaluation de la formation du biofilm *in vitro*

5.1. Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

Le test TCP décrit par **O'Toole *et al.*, (2000)** permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm. A partir d'une culture de 24 heures dans le milieu BHIB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150 µL de la suspension bactérienne ajustée à une DO de 0,1. Les microplaques sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les puits sont lavés trois fois avec l'eau distillée stérile afin d'éliminer les bactéries libres (planctoniques). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,1%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage pendant quelque minute. Les microplaques sont ensuite remplies avec 150 µL d'une solution d'éthanol (95%) afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (**Stepanovic *et al.*, 2000**) (Figure 08).

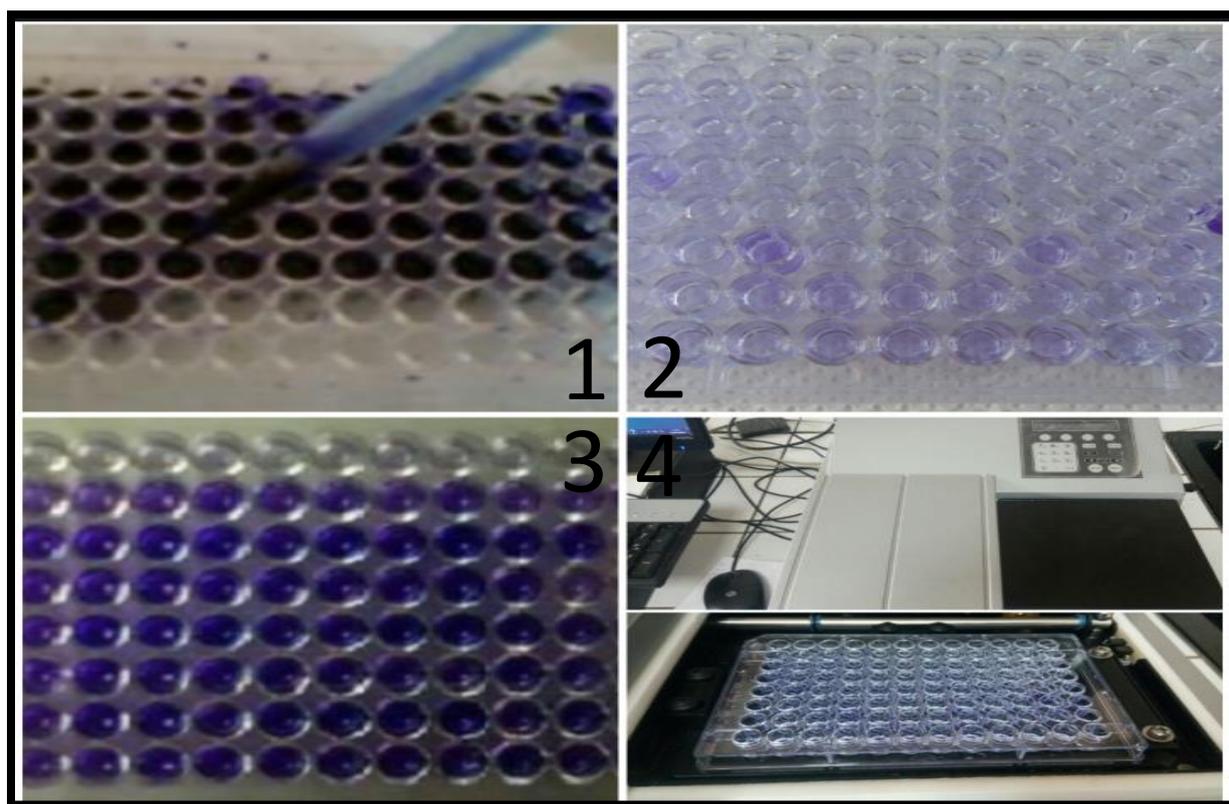


Figure 08 : Détection et lecture de biofilm par méthode TCP

- 1 : Coloration par Cristal Violet.
- 2 : Rinçage par l'eau physiologique stérile.
- 3 : Récupération de biofilm par l'éthanol.
- 4 : Lecture de microplaque par un lecteur ELISA.

5.1.1. Lecture

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées comme suit : $DO \leq DO_t(\text{Témoin})$: non formatrice du biofilm. $DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$: Modérément formatrice du biofilm. $DO_t \times 4 \leq DO$: Fortement formatrice du biofilm (Christensen *et al.*, 1985).

5.2. Technique de Rouge Congo Agar (RCA)

La formation de biofilm a été recherchée sur le milieu Rouge Congo. Ce milieu a été préparé en : additionnant 0,8 g de Rouge Congo et 50 g de saccharose à 1 L de gélose coeur-cerveille, puis autoclavé à 115°C pendant 10 minutes. Le milieu est ensemencé avec une anse d'une suspension de notre souche (une colonie dans 20 ml d'eau distillée). La lecture a été faite

après une nuit d'incubation à 37°C et 24 heures supplémentaires à température ambiante (Touati *et al.*, 2007).

5.2.1. Lecture

Les souches productrices de slime donnaient des colonies noires. Les souches de phénotype variables donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir (Nasr *et al.*, 2012).

5.3. Effet du glucose et du saccharose sur la formation de biofilm par la technique TCP

Suite aux nombreuses études rapportant l'effet de la composition du milieu de croissance sur la production du biofilm, il nous a semblé utile d'étudier la formation de biofilm par la technique TCP décrite précédemment en utilisant le milieu BHIB supplémenté de 1%, 2% de saccharose et de 1%, 2% de glucose.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Prélèvements

1.1. Résultats de prélèvements

Durant une période de 2 mois, un total de 50 prélèvements de sondes endotrachéales (Figure 10) été recueillis chez 50 patients hospitalisés dans le service de réanimation du CHU Tlemcen. L'âge des patients est de 20 à 84 ans.



Figure 10 : Un prélèvement d'une sonde endotrachéale

1.2. Répartition des souches

Sur les 50 sondes endotrachéales, nous avons isolé 56 souches de différentes espèces bactériennes :

18 souches du genre *Staphylococcus* (32.14%), 12 souches de *Klebsiella pneumoniae* (21.42%), 11 souches pour *Pseudomonas aeruginosa* (19.64%), suivi par 05 souches *Escherichia coli* (8.92%), 04 souches *Acinetobacter baumannii* (7.14%), 03 souches *Serratia marcescens* (5.35%) et 01 souche de *Shewanella putrefaciens* correspond (1.78%) de même pour *Proteus penneri* (Figure 11).

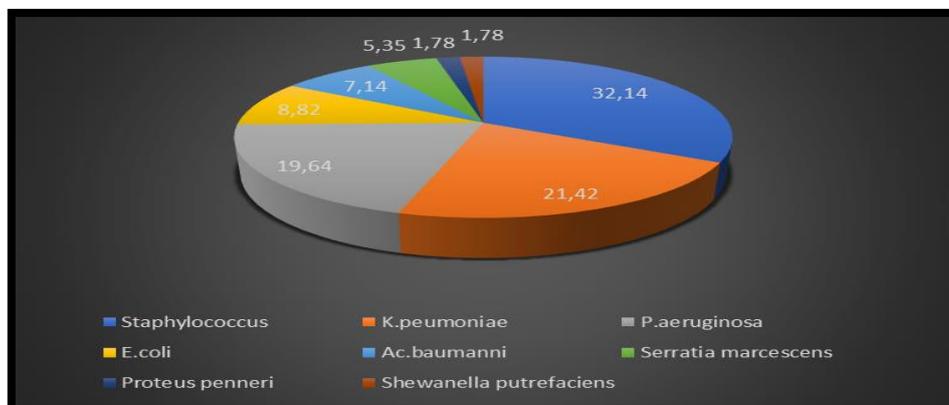


Figure 11 : Répartition des souches isolées des sondes endotrachéales au niveau du service de réanimation

Sur les 18 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, 16 (88.88%) souches ont été identifiées comme des *S. aureus* et 2 (11.11) souches de staphylocoque blanc.

L'espèce *S. aureus* présente le potentiel de pathogénicité le plus essentiel de toutes les espèces du genre *Staphylococcus*. Ce germe est un agent commensal des tissus mous et de la peau. Elle est responsable d'infections chroniques et aiguës, principalement en raison de leur capacité à adhérer à des dispositifs médicaux et à former un biofilm (Liesse Iyamba, 2012).

Selon Philippart *et al.*, (2012), le taux des souches isolées de sondes endotrachéales était très élevé où les Staphylocoques occupent la première place avec un taux de 49.2% (180 souches) suivi par les Entérobactéries 28.1% (103 Souches) et 19 souches du genre *Pseudomonas* (5.2%).

On a remarqué que la durée d'intubation trachéale varie entre 5 et 21 jours chez les patients ventilés en réanimation. Une durée prolongée favoriserait le développement d'une infection nosocomiale sur ces dispositifs médicaux. C'est pourquoi plusieurs auteurs suggèrent de remplacer le dispositif médical avant une culture bactérienne (Séchar *et al.*, 2005).

2. Caractères bactériologiques des souches *S. aureus*

2.1. Aspect macroscopique

Sur le milieu Chapman et après 24 à 48h d'incubation à 37°C, l'étude bactériologique nous a permis d'identifier des colonies de petite taille qui apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non, ils sont de couleur blanche et ils sont arrondis à bords réguliers de 1 à 2 mm (Figure 12).

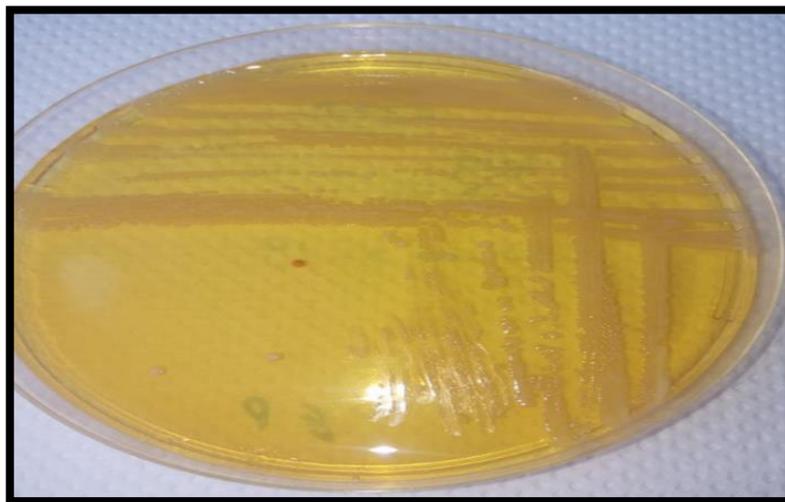


Figure 12 : Colonies de *Staphylococcus aureus* sur gélose de Chapman

2.2. Caractères biochimiques

L'identification bactérienne par le système API Staph a permis de caractériser 16 souches de *S. aureus* avec deux biotypes : le biotype 6736113 le plus répondeu et le biotype 6736753 (Figure 13).



Figure 13 : Identification de *S. aureus* par la galerie API Staph

Des études antérieures ont été réalisées dans le CHU Tlemcen où différents biotypes ont été isolés dans les différents services. [(Rebiahi, 2012); (Khadir, 2013) ;(Kara Terki, 2014)].

3. Détection et évaluation de la formation du biofilm des *S. aureus* isolées de sonde endotrachéale

Des techniques classiques de la détection et l'évaluation de la formation du biofilm *in vitro* ont été établies telles que la technique du Rouge Congo (RCA) et la technique de plaque de culture (TCP) (Mathur *et al.*, 2006).

3.1. Techniques de plaque de culture 96 puis (TCP)

Selon le tableau 01 et la figure 14, la technique de microplaque 96 puits a montré que 3 souches sont fortement formatrices du biofilm et 13 souches sont modérément formatrices (Figure 14).

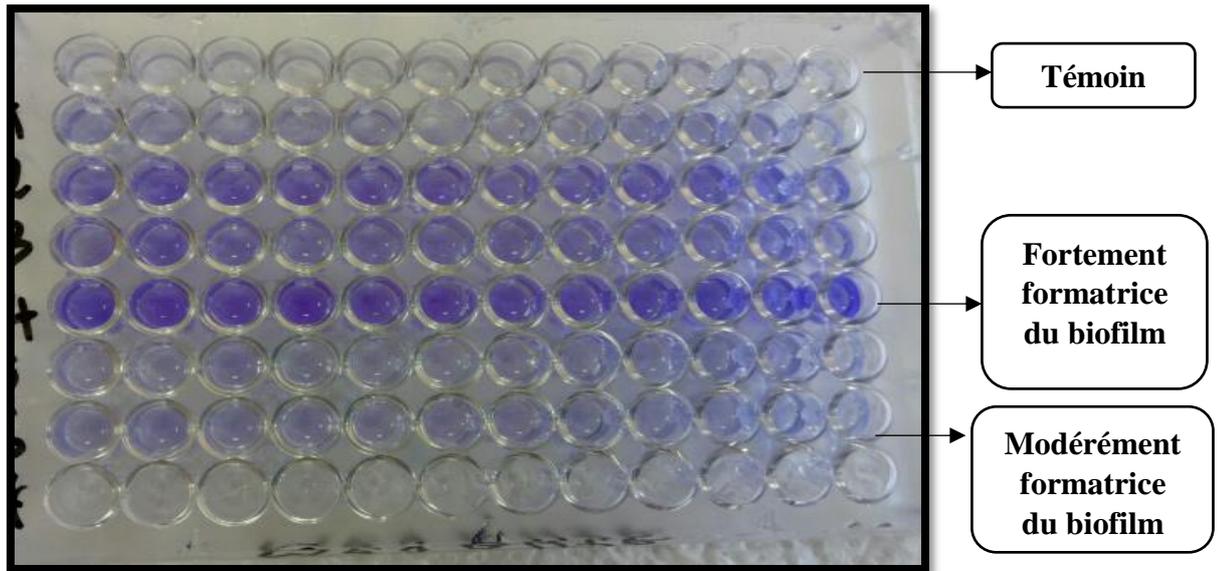


Figure 14 : Formation du biofilm par la technique TCP

<i>S. aureus</i>	Forte		Modérée		Absente	
	Nombres	%	Nombres	%	Nombres	%
	3	18.75%	13	81.25%	0	0%
Total	16					

Tableau 01 : Résultats de la technique en microplaque TCP

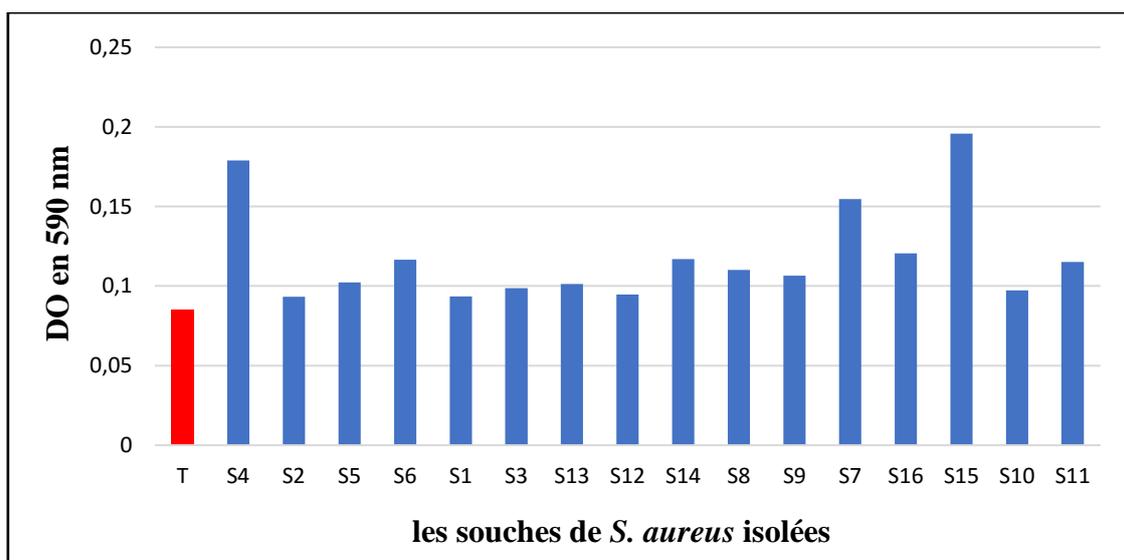


Figure 15 : Quantification des biofilms formés par *S. aureus* par la technique TCP

Plusieurs études ont été réalisées sur la capacité des staphylocoques à former le biofilm. **Feldman et al., (1999)** a montré que 50% des souches de staphylocoques isolées de sondes endotrachéales étaient des bonnes formatrices du biofilm.

De même **Mathur et al., (2006)** ont trouvé que la plupart des souches de *S. aureus* isolées de dispositifs médicaux étaient de bonnes formatrices du biofilm.

La technique TCP est la meilleure technique pour le dépistage de la formation du biofilm [(**Bellifa, 2013**); (**Kara Terki, 2014**)]. C'est une technique économique et pratique pour étudier les facteurs et les conditions de cultures (**Castro Melo et al., 2013**).

3.2. Technique de Rouge Congo Agar

La détection de la production de slime sur milieu Rouge Congo a montré que les 16 souches (100%) de *S. aureus* isolées de sondes endotrachéales sont productrices du slime (Figures 15).

Nos résultats concordent avec ceux de **Chibi, (2015)** où il a trouvé que 100% des souches *S. aureus* sont formatrices de slime. La production de slime est essentielle chez les *S. aureus* (**Arciola et al., 2001**).

Selon (**Rasha et al., 2012**), la technique de TCP permet une détermination quantitative pour comparer l'adhésion de différentes souches, c'est pour cette raison, ils ont proposé la technique de Rouge Congo Agar (RCA) comme une alternative à la méthode de TCP. Cette technique est sensible, spécifique et prend moins du temps.



Figure 16 : Production de slime chez les *S. aureus* sur milieu RCA

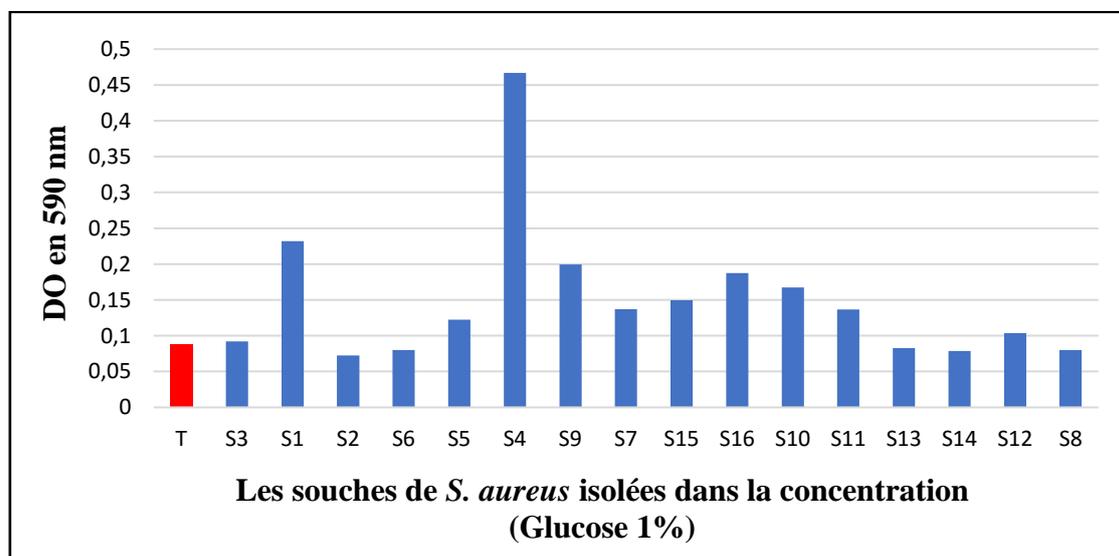
3.3. Effet du glucose et du saccharose sur la formation du biofilm par la technique TCP

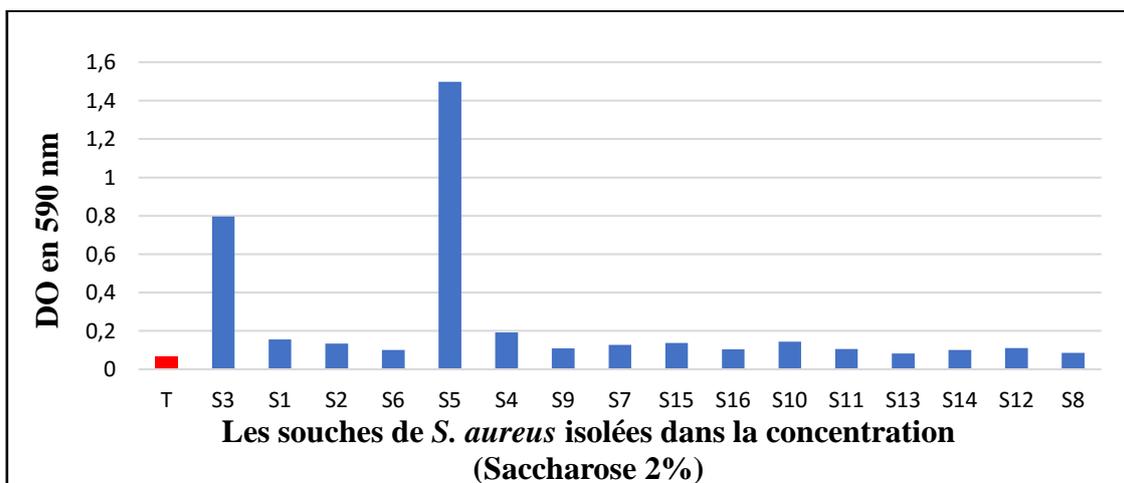
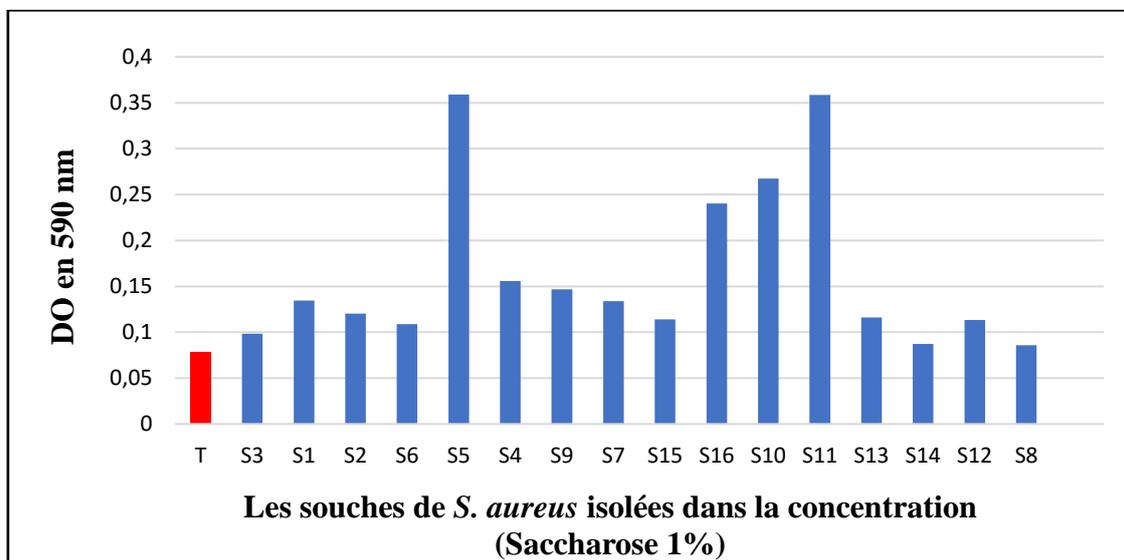
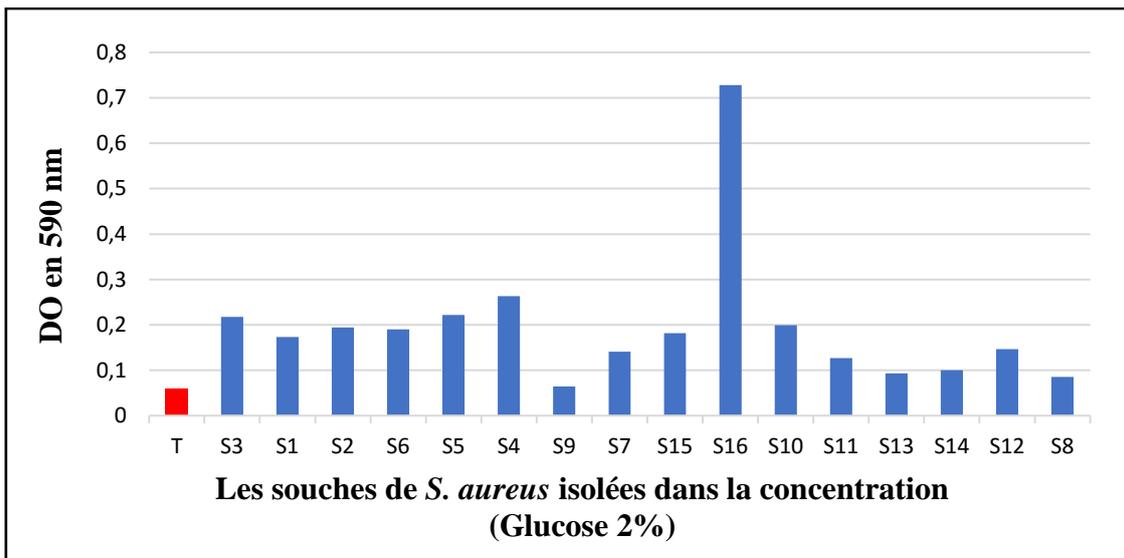
Pour tester l'impact des conditions environnementales sur la formation du biofilm, nous avons utilisé le milieu de croissance (BHIB) supplémenté de 1% et 2% de saccharose et 1% et 2% de glucose.

Selon le tableau 02 et les figures 16 et par comparaison des différentes valeurs de DO et des différentes concentrations de glucose et saccharose, on a remarqué une augmentation du nombre des souches formatrices du biofilm. Le glucose et le saccharose semblent stimuler plus la formation du biofilm.

Nombres de <i>S. aureus</i> isolées n= 16	Formation de biofilm	TCP							
		Glucose				Saccharose			
		1%		2%		1%		2%	
		Nombres	%	Nombres	%	Nombres	%	Nombres	%
Fort	6	37.5%	7	43.75%	5	31.25%	8	50%	
Modéré	9	56.25%	10	62.5%	11	68.75%	8	50%	
Absente	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	

Tableau 02 : Résultats de TCP avec supplément (1%, 2% Saccharose) et (1%, 2% Glucose)





Figures 17 : Formation du biofilm par *S. aureus* par la TCP avec des différentes concentrations de Saccharose et Glucose

Kara Terki, (2014) a montré après l'ajout de l'un des sucres, que le taux global de souches formatrices de biofilm a augmenté de 30 % à 49.5%. Le saccharose stimule plus la formation du biofilm où 39 sont de bonnes formatrices et 60 modérément formatrice.

Rasha et al., (2012) et **Agarwal et Jain, (2013)** ont montré une augmentation significative de la formation du biofilm par des isolats de *Staphylococcus* lorsqu'ils ont testé la capacité de former le biofilm à des concentrations différentes de glucose.

L'utilisation de différentes supplémentations de sucre est essentielle à la formation de biofilm chez les staphylocoques (**Mathur et al., 2006**).

CONCLUSION

Les infections bactériennes sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier dont la majorité peut être due aux staphylocoques. Ces infections aggravées, dues au développement de biofilms à staphylocoques constituent actuellement un vrai problème de santé publique.

La capacité de *S. aureus* à former du biofilm est reconnue comme un facteur de virulence important.

Durant la période d'étude, 56 souches isolées de 50 sondes endotrachéales provenant de patients hospitalisés au service de réanimation CHU Tlemcen. Après l'analyse bactériologique, 16 souches de *S. aureus* ont été isolées, avec une diversité de biotypes.

Les études de la formation du biofilm ont été réalisées par la technique de plaque de culture 96 puis (TCP), avec utilisation du milieu BHIB sans supplément et avec supplément (saccharose et glucose), et la technique de Rouge Congo (RCA). Les résultats de nos expériences ont montré que toutes les 16 souches de *S. aureus* sont formatrices du biofilm et productrices de slime, ainsi que ces souches ont la capacité de former le biofilm dans un milieu de culture contenant des sucres (saccharose et glucose).

Dans un deuxième temps, nous avons testé l'efficacité de l'huile de nigelle sur l'activité anti biofilm et sur un biofilm préformé dans des différentes concentrations. La première expérience a montré que l'huile de nigelle a inhibé l'adhésion des microorganismes et par conséquent l'installation de biofilm. La seconde expérience a montré que l'huile de nigelle a éliminé le biofilm préformé.

Ce travail, nous encourage à continuer notre recherche sur l'effet de l'huile de nigelle sur d'autres bactéries pathogènes responsables des infections nosocomiales.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

1. **Accarias S. (2014).** Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat. Toulouse pp19.
2. **Agarwal A et Jain A. (2013).** Glucose & sodium chloride induced biofilm production & ica operon in clinical isolates of staphylococci. *Indian Journal of Medical Research.* 138 (2):262266.
3. **Arciola C R., Baldassarri L., Montanaro L. (2001).** Presence of icaA and icaD genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *Journal of Clinical Microbiology.* 39:2151-2156.

B

4. **Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen (thèse doctorat).
5. **Bousseboua H. (2005).** Éléments de microbiologie : programme de graduation : biologie, médecine, pharmacie, chirurgie dentaire, sciences vétérinaires, sciences alimentaires, agronomie. 2ème édition. Edition Campus-Club, 304p.
6. **Brun-Buisson C., Abrouk F., Legrand P., Huet Y., Larabi S., et Rapin M. (1987).** Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Archives of Internal Medicine,* 147, 873-7.
7. **Burin Des Rozier M P C. (2002).** Les biofilms. Thèse de doctorat : Ecole national Vétérinaire d'Alford. 92P.

C

8. **Carole Minker, C.D. (2013).** 200 plantes qui vous veulent du bien.. 448.
9. **Castro Melo P. Ferrrira L M. Filho A N. Zafalon L F. Godoy Vicente H L. De Souza V. (2013).** Comparaison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Brazillian journal of microbiology.*44 (1) : 1517-8382
10. **Chaieb K. Kouidhi B. Jrah H. Mahdouani K. Bakhrouf A. (2011).** Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation.

Références bibliographiques

11. **Chibi A. (2015).** Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *S. aureus* isolées de CHU Tlemcen. Thèse de doctorat.
12. **Christensen G D., Simpson W A., Younger J A., Baddour L M., Barrett F F., et Melton DM. (1985).** Adherence of coagulase negative Staphylococci to plastic tissue cultures: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 996–1006.
13. **Costerton J W., Stewart P S et Greenberg E P. (1999).** Bacterial biofilms : a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.
14. **Couture B., et Québec. (1990).** Direction générale de l'enseignement collégial. *Bactériologie médicale: étude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical*. Décarie; Vigot.

D

15. **Davido B. (2010).** Étude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré thèse. *Paris: Université Diderot*.
16. **De Billerbeck V G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5(5), 249-253
17. **De Chalvet De Rochemonteix A. (2009)** Les biofilms et la peau. Thèse de doctorat, École vétérinaire de Maisons-Alfort.
18. **De Souza P R., De Andrade D., Cabral D B., et Watanabe E. (2014).** Endotracheal tube biofilm and ventilator-associated pneumonia with mechanical ventilation. *Microscopy research and technique*, 77(4), 305-312.
19. **Donlan R M. (2002).** Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881.
20. **Dunne W.M. (2002).** Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?. *Clinical microbiology reviews*. 15(2): 155-166.

E

21. **El-Shouny W A. Ali S S. Fayed S F. (2016).** The antimicrobial activity of nigella sativa against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diabetic wound infections. *MATTER : international journal of science and Technology*.
22. **Espinasse, F., Page B., et Cottard-Bouille B. (2010).** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*, 2010(426), 51-63.

Références bibliographiques

23. Eveillard M. (2007). Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission (thèse doctorat, Université d'Angers).

F

24. Feldman C., Kassel M., Cantrell J., Kaka S., Morar R., Goolam Mahomed A., Philips JI. (1999). The presence and sequence of endotracheal tube colonization in patients undergoing mechanical ventilation. *European Respiratory Journal*. 13:546–551.

25. Filloux A., et Vallet I. (2003). Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *médecine/sciences*, 19(1), 77-83.

26. Fomba M. (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinetobacter baumannii* et des staphylocoques à coagulase négative à l'hôpital du point G thèse de doctorat : Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie.95P.

G

27. Gazengel J M., Orecchioni A M. (2013). Le préparateur en pharmacie, guide théorique et pratique. 2ème édition LOVOISIER, P : 1556.

28. Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action (thèse doctorat, Université de Corse).

H

29. Hamza R. (2010). Healthcare-associated infections epidemiology. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, 4, 1-4.

30. Heiss, A.G., et al. (2011). Seed morphology of *Nigella* sp (Ranunculaceae): Identification, diagnostic traits, and their potential phylogenetic relevance. *International Journal of Plant Sciences*,. 172(2): p. 267-284

31. Hosseinzadeh h. Fazly Bazzaz B S. Motevaly Haghi M. (2007). Antibacterial Activity of Total Extracts and Essential oil of *Nigella Sativa* L. Seeds in Mice.

K

32. Kalia V C. (2013). Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology advances*, 31(2), 224-245.

- 33. Kaplan J Á. (2010).** Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of dental research*, 89(3), 205-218.
- 34. Kara Terki I. (2014).** Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen (thèse doctorat).
- 35. Khadir A. (2013).** Effet inhibiteur de certains extraits de plantes aromatiques sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline SARM isolées du CHU de Tlemcen
- 36. Khatoon Z., McTiernan C D., Suuronen E J., Mah T F., et Alarcon E I. (2018).** Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon*, 4(12), e01067.
- 37. Kokoska L. (2011).** Chemistry and biological activity of Nigella genus: the antimicrobial and anti-inflammatory effects of seed extracts, essential oils and compounds of six Nigella species. *LAP LAMBERT Academic Publishing, Saarbrucken, Germany.*

L

- 38. Ladhani S. (2003).** Understanding the mechanism of action of the exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 39(2), 181-189.
- 39. Lattab A. (2018).** Effet des composés naturels sur l'adhérence et la formation de biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis)
- 40. Lebeaux D, Ghigo J M (2012).** Management of biofilm-associated infections: what can we expect from recent research on biofilm lifestyles? *Med Sci (Paris)* 28:727–39.
- 41. Lebeaux D., Lucet J C., et Barbier F S. (2016).** Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm: implications en réanimation. *Réanimation*, 25(3), 308-317.
- 42. Levine S A., Niederman M S. (1991).** The impact of tracheal intubation on host defenses and risks for nosocomial pneumonia. *Clinics in chest medicine*, 12(3), 523-543.
- 43. Liesse Iyamba J M. (2012).** Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique. Thèse de doctorat : Université libre de Bruxelles, Faculté de Pharmacie, Ecole Doctorale en Sciences Pharmaceutiques. 226p.

M

- 44. Mahami T., Adu-Gyamfi A. (2011).** Biofilm-associated infections: public health implications. *Inter. Res. J. Microbiol*, 2(10), 375-381.

Références bibliographiques

45. **Manju S. Malaikozhundan B. Vijayakumar S. Shanthi S. Jaishabanu A. Ekambaram P. Vaseeharan B. (2016).** Antibacterial, antibiofilm and cytotoxic effects of *Nigella sativa* essential oil coated gold nanoparticles
46. **Marti S., Nait Chabane Y., Alexandre S., Laurent Coquet L., Vila J, Jouenne T., Dé E. (2011).** Growth of *Acinetobacter baumannii* in Pellicle Enhanced the Expression of Potential Virulence Factors. *PLoS ONE*. 6: e26030.
47. **Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay DJ., Fatma T., Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 24: 25-29
48. **Meziti A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
49. **Monsel A., Le Corre M., Deransy R., Brisson H., Arbelot C., Vézinet C., et Langeron O. (2018).** «La ventilation mécanique: de la physiologie à la pratique»: quelle sonde, quel circuit, quel ventilateur?. *Anesthésie & Réanimation*, 4(2), 180-189.
50. **Mouwakeh, A., Kincses, A., Nové, M., Mosolygó, T., Mohácsi-Farkas, C., Kiskó, G., et Spengler, G. (2019).** *Nigella sativa* essential oil and its bioactive compounds as resistance modifiers against *Staphylococcus aureus*. *Phytotherapy Research*.

N

51. **Nasr SA., AbuShady H M., Hussein HS. (2012).** Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 1110-8630.
52. **Njall C., Adiogo D., Bitá A., Ateba N., Sume G., Kollo B. (2013).** Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *The Pan African Medical Journal*. 2013; 14:140.

O

53. **O'Toole G A., Kaplan H B., et Kolter R. (2000).** Biofilm formation as microbial development. *The Annual Review of Microbiology*, 54, 49- 79
54. **Otto M. (2008).** Staphylococcal biofilms. In *Bacterial biofilms*(pp. 207-228). Springer, Berlin, Heidelberg.

P

- 55. Palmer L B. (2010).** Ventilator-associated tracheobronchitis. *Curr Respir Med Rev* 2010;6:58-64.
- 56. Philippart F., Quinquis L., Gaudry S., Lau N., Ouanes I., Touati S., Fournier J., Bournaud E., Lecomte L., Grabar S., Ricard J.D., Forceville X., Abroug F., Misset B. (2012).** Évolution de la colonisation bactérienne de la trachée chez les patients sous ventilation mécanique, étude TOP-Cuff, (réanimation)
- 57. Phillips P L., Wolcott R D., Fletcher J., et Schultz G S. (2011).** Biofilms Made Easy. *Wounds International* 2010; 1 (3). Available at: [bit. ly/1CJUTUX](http://bit.ly/1CJUTUX) (accessed February 2016).
- 58. Pibiri M C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles (No. THESIS). EPFL.
- 59. Pinciroli R., Mietto C., et Berra L. (2013).** Respiratory therapy device modifications to prevent ventilator-associated pneumonia. *Current opinion in infectious diseases*, 26(2), 175-183.
- 60. Planchon S. (2006).** Aptitude de *Staphylococcus carnosus* et *Staphylococcus xylosus* à former des biofilms. Etude d'une souche " biofilm-positif" par une approche protéomique (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- 61. Pneumatikos I A., Dragoumanis C K., et Bouros D E. (2009).** Ventilator-associated pneumonia or endotracheal tube-associated pneumonia? An approach to the pathogenesis and preventive strategies emphasizing the importance of endotracheal tube. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 110(3), 673-680.

R

- 62. Racha A N., Abu Shady H M., Hussein H S. (2012).** Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian Journal of Medical and Genetic* .13: 269–274.
- 63. Ramirez P., Ferrer M., et Torres A. (2007).** Prevention measures for ventilator-associated pneumonia: a new focus on the endotracheal tube. *Current opinion in infectious diseases*, 20(2), 190-197.
- 64. Rebiahi S A. (2012).** Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat Tlemcen.
- 65. Roux A., Ghigo J M. (2006).** Les biofilms bactériens. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*.

66. Ruveyda Ugur A., Turk Dagi H., Ozturk B., Tekin G., & Findik D. (2016). Assessment of *In vitro* antibacterial activity and cytotoxicity effect of *Nigella sativa* oil. *Pharmacognosy magazine*, 12(47), 471-74.

S

67. Sanogo M., Sokona F. M., Guindo S., Oumar A A., et Kanoute G. (2007). Contribution à la mise en place d'un système de gestion durable des déchets biomédicaux à l'Hôpital Gabriel Touré (Mali). *Le Pharmacien Hospitalier*, 42(170), 143-147.

68. Sauer K., Camper A K., Ehrlich G D., Costerton J W., et Davies D G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of bacteriology*, 184(4), 1140-1154.

69. Schaechter M., Medoff G., et Eisenstein B I. (1999). Microbiologie et pathologie infectieuse. De Boeck Supérieur.

70. Sécher I., Hermès I., Pré S., Carreau F., et Bahuet F. (2005). Cas groupes d'infections du site opératoire a *Pseudomonas aeruginosa* en orthopédie/traumatologie. *Médecine et maladies infectieuses*, 35(3), 149-154.

71. Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B S., & Vabic-Vlahovic M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40, 175–179.

T

72. Touati A., Achour W., Abbassi et al., (2007). Détection des gènes ica et de la production de slime parmi des souches de *Staphylococcus epidermidis* isolées d'infections liées aux cathéters chez des patients neutropéniques, Pathologie Biologie.

73. Trautner B W., et Darouiche R O. (2004). Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. *American journal of infection control*, 32(3), 177-183.

74. Tremblay Y D., Hathroubi S., et Jacques M. (2014). Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.

75. Treter J., Macedo A J. (2011). A suitable surface for biofilm formation. In Méndez-Vilas A. ed. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Spain: Formatex Research Center, pp 835-842.

76. Trouillet J L., Luyt C E., Combes A., et Chastre J. (2013). Pneumonies acquises sous ventilation mécanique. In *Infectiologie en réanimation* (pp. 407-422). Springer, Paris.

V

76. Van Houdt R., Michiels C W. (2005). Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Research in microbiology*, 156(5-6), 626-633.
77. Vitko N P., Richardson A R. (2013). Laboratory Maintenance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Current protocols in microbiology*, 28(1), 9C-2.
78. Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N R., Ludwig W., Rainey F A., et Whitman W B. (Eds.). (2011). *Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes* (Vol. 3). Springer Science & Business Media.
79. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**

ANNEXES

Annexe 01 : Caractéristiques des 50 patients inclus dans l'étude

Les patients	L'âge	Les espèces trouvés
Patient 01	30 ans	<i>K. pneumonia</i> <i>S. aureus</i>
Patient 02	78 ans	<i>E. coli</i> <i>Serratia marcescens</i>
Patient 03	48 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 04	22 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 05	80 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 06	67 ans	<i>Shewanella putrefaciens</i> <i>S. aureus</i>
Patient 07	55 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 08	80 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 09	82 ans	<i>P. aeruginosa</i> <i>AC. baumani</i>
Patient 10	79 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 11	84 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 12	41 ans	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>
Patient 13	55 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 14	80 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 15	82 ans	<i>Proteus penneri</i>
Patient 16	25 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 17	36 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 18	21 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 19	80 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 20	73 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 21	44 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 22	66 ans	<i>K. pneumonia</i> <i>S. aureus</i>
Patient 23	32 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 24	55 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 25	80 ans	<i>K. pneumonia</i>

Patient 26	81 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 27	79 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 28	70 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 29	42 ans	<i>P. aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i>
Patient 30	82 ans	<i>E. coli</i>
Patient 31	76 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 32	80 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 33	79 ans	<i>AC. baumani</i>
Patient 34	60 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 35	83 ans	<i>AC. baumani</i>
Patient 36	66 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 37	69 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 38	33 ans	<i>E. coli</i>
Patient 39	84 ans	<i>AC. baumani</i>
Patient 40	28 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 41	74 ans	<i>Serratia marcescens</i>
Patient 42	77 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 43	83 ans	<i>K. pneumonia</i> <i>S. aureus</i>
Patient 44	68 ans	<i>AC. baumani</i>
Patient 45	64 ans	<i>S. aureus</i>
Patient 46	53 ans	<i>Serratia marcescens</i>
Patient 47	24 ans	<i>K. pneumonia</i>
Patient 48	55 ans	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>
Patient 49	71 ans	<i>P. aeruginosa</i>
Patient 50	80 ans	<i>K. pneumonia</i>

Annexe 02 : Résultats des DO avec un BHIB sans supplément

Souches	DO
T	0,08516667
S4	0,17891667
S2	0,09333333
S5	0,10225
S6	0,11658333
S1	0,09341667
S3	0,09875
S13	0,10125
S12	0,09475
S14	0,117
S8	0,11008333
S9	0,1065
S7	0,15475
S16	0,1205
S15	0,19575
S10	0,09725
S11	0,11508333

Annexe 03 : Résultats des DO avec un BHIB supplément (Glucose 1%, 2%) et (Saccharose 1%, 2%).

Glucose				Saccharose			
1%		2%		1%		2%	
Souches	DO	Souches	DO	Souches	DO	Souches	DO
T	0,08791667	T	0,06041666	T	0,07791666	T	0,06791666
S3	0,09225	S3	0,21725	S3	0,09825	S3	0,79541666
S1	0,232	S1	0,17333333	S1	0,13466666	S1	0,15516666
S2	0,07258333	S2	0,19466666	S2	0,12041666	S2	0,13408333
S6	0,07991667	S6	0,19033333	S6	0,10866666	S6	0,100166667
S5	0,12233333	S5	0,222	S5	0,35891666	S5	1,497583333
S4	0,46658333	S4	0,26316666	S4	0,15566666	S4	0,191833333
S9	0,19925	S9	0,0645	S9	0,14683333	S9	0,108583333
S7	0,136917	S7	0,140667	S7	0,13383333	S7	0,12791666
S15	0,149417	S15	0,181917	S15	0,114	S15	0,137

S16	0.187417	S16	0,72775	S16	0,24025	S16	0,10425
S10	0.167333	S10	0,19925	S10	0,26733333	S10	0,14375
S11	0.136833	S11	0,126917	S11	0,3585	S11	0,10525
S13	0.08283333	S13	0,09333333	S13	0,116	S13	0,08191666
S14	0.07883333	S14	0,10025	S14	0,08733333	S14	0,10058333
S12	0.10375	S12	0,14625	S12	0,11333333	S12	0,11041666
S8	0.08	S8	0,08541666	S8	0,08575	S8	0,08658333

Annexe 04 : Milieux de culture

1. Milieu de Chapman

➤ Composition :

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

Extrait de viande (bovin ou porcin) 1g
 Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin) 10g
 Chlorure de sodium..... 75g
 Mannitol..... 10g
 Agar..... 15g
 Rouge de phénol..... 0,025g

pH=7,6

➤ **Préparation :** 111g par d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

2. Gélose nutritive pour la conservation

➤ Composition :

Peptone..... 10.0g
 Extrait de viande..... 5g
 Chlorure de sodium..... 5g
 Agar..... 10.0g

pH=7.3

➤ **Préparation :** 28g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

3. Milieu Rouge Congo Agar (RCA)

➤ **Composition :**

BHIB.....	.37 g/l
Saccharose.....	50 g/l
Agar.....	10 g/l
Rouge Congo.....	0.8 g/l
Eau distillée	1000 ml/l

pH= 7.4

➤ **Préparation :** Stérilisation à l'autoclave : 121°C pendant 15 minutes.

4. Bouillon cœur-cerveille (BHIB)

➤ **Composition :**

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de coeur de boeuf.....	5.0g
Peptone.....	10.0g
Glucose.....	2.0g
Chlorure de sodium.....	2.0g
Phosphatase di sodique.....	5g

pH= 7.4

➤ **Préparation :** 38g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 15min.

Résumé

Staphylococcus aureus est une bactérie à gram positive et l'une des principales causes des infections associées aux soins. Elle est causée des infections chroniques et aiguës qui sont dues à sa capacité à adhérer sur les surfaces des dispositifs médicaux et à former un biofilm.

Le biofilm est une communauté hétérogène dynamique polymicrobienne qui s'adhère aux surfaces abiotiques ou biotiques. L'objectif de ce travail est d'étudier la formation du biofilm par les *S. aureus* isolés des sondes endotrachéales par différentes techniques puis tester l'effet de l'huile de nigelle sur l'activité anti biofilm et sur un biofilm préformé. Sur une période de 2 mois, 16 souches de *S. aureus* ont été isolées à partir des sondes endotrachéales recueillies chez 50 patients hospitalisées dans le service de réanimation CHU Tlemcen. Selon les 2 techniques étudiées (TCP sans supplément et avec supplément de sucre, RCA) les souches de *S. aureus* sont des formatrices du biofilm et productrices de slime. L'huile de nigelle testée, a montré une très bonne activité sur les *S. aureus* dans différentes concentrations (10%, 20%, 30%, 40%, 50%). Ce qui prouve leur capacité à traiter les dispositifs médicaux et joue un rôle d'agent antibactérien.

Mots clé : biofilm, *Staphylococcus aureus*, sonde endotrachéale, l'huile de nigelle.

Abstract

Staphylococcus aureus is a gram-positive bacterium and one of the leading causes of healthcare-associated infections. It is caused by chronic and acute infections that are due to its ability to adhere to the surfaces of medical devices and form a biofilm.

Biofilm is a heterogeneous dynamic polymicrobial community that adheres to abiotic or biotic surfaces. The aim of this work is to study the formation of the biofilm by *S. aureus* isolated endotracheal probes by different techniques then test the effect of Nigella oil on anti biofilm activity and a preformed biofilm. Over a period of 2 months, 16 strains of *S. aureus* were isolated from endotracheal tubes collected from 50 patients hospitalized in the intensive care unit CHU Tlemcen. According to the 2 techniques studied (TCP without supplement and with supplement of sugar, RCA) the strains of *S. aureus* are formers of the biofilm and producers of slime. The oil of Nigella tested, showed a very good activity on the *S. aureus* in different concentrations (10%, 20%, 30%, 40%, 50%). This proves their ability to treat medical devices and acts as an antibacterial agent.

Key words: biofilm, *Staphylococcus aureus*, endotracheal tube, oil nigella

ملخص

المكورات العنقودية الذهبية هي بكتيريا **Gram positif** وأحد الأسباب الرئيسية للعدوى المرتبطة بالرعاية الصحية. وهي ناتجة عن الالتهابات المزمنة والحادة التي تنجم عن قدرتها على التمسك والالتصاق على الأجهزة الطبية وقدرتها على تشكيل الشريط الحيوي. البيوفيلم أو الشريط الحيوي هو مجتمع ديناميكي غير متجانس ومتعدد الميكروبات، التي تلتصق بالأسطح الحيوية أو الغير حيوية. الهدف من هذا العمل هو دراسة تكوين الاغشية الحيوية بواسطة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من انابيب القصبة الهوائية بتقنيات مختلفة. تم اختبار تأثير زيت الحبة السوداء على نشاط الغشاء الحيوي وعلى الغشاء الحيوي المشكل. خلال شهرين، تم عزل 16 سلالة من المكورات العنقودية الذهبية من انابيب القصبة الهوائية التي تم جمعها من 50 مريض متواجد بالعناية المشددة بمستشفى تلمسان. وفقا للتقنيتين المدروستين (TCP و RCA) وجدنا ان سلالات المكورات العنقودية تشكل الاغشية الحيوية وتنتج (slime). أظهرت زيت الحبة السوداء التي تم اختبارها، نشاطا جيدا جدا على المكورات العنقودية الذهبية في تركيزات مختلفة (10%، 20%، 30%، 40%، 50%). هذا ما يثبت قدرتها على علاج الأجهزة الطبية وقدرتها كمضاد للجراثيم.

الكلمات المفتاحية: الغشاء الحيوي، المكورات العنقودية الذهبية، أنبوب القصبة الهوائية، زيت الحبة السوداء.