



République Algérienne Démocratique et Populaire
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi –TEBESSA



FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE

THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat

En sciences biologiques

Option : MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

Thème :

**PREVALENCE ET PROFIL D'ANTIBIORESISTANCE DES SOUCHES
STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANTES A LA METHICILLINE
(SARM) ISOLEES DES MILIEUX HOSPITALIERS DANS LA WILAYA
DE TEBESSA**

Présentée par : Mme. AZIZI NASSIMA

Devant le jury :

Présidente : Pr. BOUABIDA HAYET

Directeur de thèse: Pr. MECHAI A.BASSET

Examinatrice : MCA. MERABTI RYMA

Examinatrice : MCA. LEULMI NASSIMA

Examinatrice : MCA. DRIS DJEMAA

Examinatrice : MCA. GACEM HABIBA

Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi -Tébessa-

Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi -Tébessa-

Université Abbes Laghrour -Khenchela-

Université Abbes Laghrour -Khenchela-

Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi -Tébessa-

Ecole Normale Supérieure d'Enseignement Technologique
-Skikda-

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2023-2024

SOMMAIRE		page
Remerciements		
Dédicace		
Résumé		
Abstract		
ملخص		
Liste des Tableaux		
Liste des Figures		
Liste des Abréviations		
PARTIE THEORIQUE		
Introduction		1
Chapitre I: Généralité sur <i>S. aureus</i>		
1. Historique		3
2. Classification.		3
3. Caractères phénétiques		5
3.1. Caractères morphologiques		5
3.2. Caractères culturels		6
3.3. Caractères physiologiques		7
3.4. Caractères biochimiques		7
4. Caractères moléculaires		7
5. Facteurs de virulence		8
5.1. Les composants de la paroi et la capsule		9
5.1.1. Le peptidoglycane		9
5.1.2. La capsule		9
5.1.3. L'acide teichoïque		9
5.2. Les protéines de surface		10
5.3. Les protéines sécrétées et toxines		10
5.3.1. Les enzymes		10
5.3.2. Les Toxines		11
5.4. La régulation de la virulence		12
5.4.1. Les facteurs de transcription		12
5.4.2. Les systèmes à deux composants		13
5.4.3. Les ARN régulateurs		13
5.4.4. La régulation de la virulence in vivo chez l'homme		13
Chapitre II: Les infections à SARM		
1. Définition		15
2. Pouvoir pathogène		15
3. Les différents types d'infections cutanées provoquées par le SARM		16
3.1. L'impétigo		16
3.2. Les folliculites		17
3.3. Le furoncle		17
3.4. L'anthrax		18
3.5. La staphylococcie maligne de la face		18
4. Prophylaxie et antibiothérapie des infections cutanées		18
5. Infections non suppuratives d'origine toxique		19
5.1. Syndromes cutanés staphylococciques		19

5.2. Toxi- infections alimentaires	19
5.3. Entérocolites aiguës	20
5.4. Syndrome du choc toxique	20
6. Septicémies à <i>S. aureus</i>	20
7. Pathogénie et immunité	21
7.1. Pathogénie	21
7.2. Immunité	21
7.2.1. Immunité humorale	22
7.2.2. Immunité cellulaire	22
CHAPITRE III : Résistance aux antibiotiques	
1. Définition	23
2. Mécanisme d'action des antibiotiques	23
2.1. Mécanisme sur la paroi	23
2.2. Mécanisme sur la synthèse des protéines	23
2.3. Mécanisme sur la synthèse des acides nucléiques	24
3. Résistance aux antibiotiques	24
3.1. La résistance naturelle	24
3.2. La résistance acquise	24
4. Support génétique de la résistance aux antibiotiques	25
4.1. Résistance à la pénicilline G	26
4.2. Résistance à l'oxacilline	26
4.3. Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> à la vancomycine	26
4.4. Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux aminoglycosides	27
4.5. Résistance de <i>S. aureus</i> aux macrolides, Lincosamides et Streptogramines	27
4.6. Résistance de <i>S. aureus</i> à la Rifampicine	28
4.7. Résistance de <i>S. aureus</i> à la Fosfomycine	29
5. Caractères moléculaires du SARM	29
5.1. Gène mec A	29
5.2. Composition de la cassette staphylococcique chromosomique (SCCmec)	29
5.2.1. Complexe ccr	30
5.2.2. Le gène mec A	30
5.2.3. Zones appelées J	30
6. Méthodes de détection de la résistance à la méticilline	31
6.1. Identification de l'espèce	31
6.2. Test de céfoxitine	32
6.3. Test screening à l'oxacilline	32
6.4. Détection rapide des SARM	32
6.5. Spectrométrie de masse (MALDI-TOF)	32
6.6. Détection du gène mec A	33
6.7. Typage moléculaire	33
6.7.1. Profil de macro restriction par électrophorèse en champs pulsé	33
6.7.2. Techniques de PCR	34
6.7.3. Le séquençage	35
6.7.4. Puce à ADN	35
PARTIE EXPERIMENTALE	
Chapitre IV: Matériel et Méthodes	
1. Objectif	37
2. Cadre d'étude	37

3. Procédure de l'étude	38
3.1 Critères de choix des échantillons	38
4. Etude bactériologique	39
4.1. Prélèvements	39
4.2. Analyses microbiologiques réalisés sur les prélèvements	40
4.2.1. Isolement de <i>S. aureus</i> responsables des infections	40
4.2.1.1. Identification des souches	40
- Examens macroscopiques	41
- Examens microscopiques	41
- Recherche de la catalase	41
- Recherche de la coagulase	42
- Galerie API Staph	43
5. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	45
6. Test de Screening à l'oxacilline pour <i>S. aureus</i>	46
7. Recherche de la β -lactamase (test du trèfle)	47
8. Le dépistage du phénotype méticillino-résistant	48
9. Dépistage du gène de virulence mec A	48
9.1 Extraction de L'ADN	49
9.2. Quantification de l'extrait d'ADN	49
9.3. Amplification du gène de résistance	50
9.4. Différenciation du produit de PCR	51
10. Analyses statistiques	53
Chapitre V : Résultats et Discussion	
1. Répartition des prélèvements	54
2. Identification de l'espèce <i>S. aureus</i>	55
2.1. L'examen macroscopique	55
2.2. L'examen microscopique	56
2.3. L'identification biochimique	56
2.3.1. catalase	56
2.3.2. coagulase	57
2.3.3. Les Biotypes des souches <i>S. aureus</i> par l'usage de l'API Staph	57
3. <i>S. aureus</i> : données épidémiologiques et cliniques	59
3.1. Caractéristiques démographiques des patients	59
3.2. Répartition des souches <i>S. aureus</i> selon les sites de prélèvements	59
3.3. Répartition des souches <i>S. aureus</i> selon le type du service	60
3.4. La distribution des <i>S. aureus</i> par rapport aux différents types d'infections	61
4. SARM: données épidémiologiques et cliniques	61
4.1. Prévalence des SARM	61
4.2. La détection phénotypique de la méticillino-résistance	61
4.3. Test de screening	62
4.4. Taux des SARM et SASM selon la nature de prélèvement.	63
4.5. Répartition des SARM et SASM selon le sexe.	63
4.6. Répartition selon l'âge des SARM et SASM	64
4.7. Relation entre les facteurs épidémiologiques et les souches SARM	64
4.8. Taux des SARM et SASM selon le type de service	65
4.9. Répartition des infections en fonction des souches SARM et SASM	66
4.10. Répartition des SARM et SASM selon l'utilisation des antibiotiques dans les Services	67

5. Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques	67
5.1. Résistance des <i>S. aureus</i> aux antibiotiques testés	67
5.2. Résistance des SARM aux antibiotiques testés	68
5.3. Profil de résistance des SARM	69
5.4. Résistance des SASM aux antibiotiques testés	71
5.4.1. Fréquence de la résistance	71
6. Détection du gène mec A	73
6.1. Mesure des concentrations et puretés des extraits d'ADN	73
6.2. Détection du gène mec A	73
Discussion	
1. Incidence et fréquence	75
2. Facteur de risque	76
3. Epidémiologie des infections à SARM	79
4. Détermination de la résistance des souches <i>S. aureus</i> aux antibiotiques	80
5. Détermination de la résistance des souches SARM aux antibiotiques	82
6. Profil de résistance des SARM	84
7. Recherche du gène mec A par PCR	85
Discussion générale	86
Conclusion	92
Références bibliographiques	
Annexes	

Remerciements

En premier lieu je tiens à remercier Allah, notre créateur, qui m'a donné la capacité de compléter ce travail et qui m'a aidé à dépasser toutes les difficultés que j'ai rencontré.

Je tiens à remercier mon encadreur Mr. Mechai Abd el bassette, pour sa patience, son soutien tout au long de ce travail.

J'exprime mes profonde remerciements à madame Bouabida Hayet, madame Driss Djemaa, madame Merabti Ryma, madame Gacem Habiba et madame Leulmi Nassima, d'avoir accepté d'être parmi les membres de Jury.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous ceux qui Ont Contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont également à tous mes amis et mes collègues de l'université de Tébessa, sans oublier tout le Personnel du département de Biologie appliquée.

Nassima



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*A mon **père**, échole de mon enfance qui a été mon ombre durant toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.*

*A ma **mère**, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, qui m'as donné l'amour et la tendresse. Merci pour tes conseils et tes encouragements.*

*Mes chères sœurs **Kaouther, Houda et Noua** ; A mes très chers frères **Walid et Chaouki** Merci pour votre soutien, pour vos sacrifices consentis tout au long de ce travail et pour votre soutien.*

*A mon conjoint **Rached** qui m'a donné le courage de terminer mes études, merci pour tes encouragements et tes conseils.*

*A mes adorables enfants : **Dhia eddine, Dhoha et ma petite Mirale.***

*Les êtres les plus proches à mon cœur : **Bouabida Hayet, Driss Djemaa, Kenza et Sabrina.***

A toute ma famille et mes collègues.

Nassima

RESUME

Staphylococcus aureus est un agent pathogène humain d'importance clinique lié à une variété d'infections. L'analyse microbiologique basée sur des caractères morpho-physio-biochimiques de **1200** prélèvements hospitaliers, dont l'objectif est de déterminer la prévalence des *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) dans la wilaya de Tébessa, a révélé la présence de **250** souches de *S. aureus* avec un taux de **20,83 %**. Un antibiogramme accompagné d'un dépistage à l'oxacilline (6 µg mL⁻¹) a permis de détecter un nombre de **78** souches SARM; avec un taux de **31,2 %**. L'étude épidémiologique a révélé que les facteurs de risque : âge, nature de prélèvement et l'utilisation de β-lactamines par les patients ont une relation avec l'infection à SARM. D'autre part; la présence de SARM n'a aucune relation avec le facteur sexe des patients hospitalisés. Le SARM isolé à partir d'échantillons hospitaliers a montré une résistance à d'autres familles d'antibiotiques ; la famille des tétracyclines avec un taux de **79,49%**, la famille des macrolides (érythromycine) **51,28%** et certains aminoglycosides (amikacine et vancomycine) avec **53,85** et **52,56%** respectivement. La détection de la résistance à la méthicilline a été complétée par la recherche du gène de résistance mec A par PCR.

La multi résistance des souches SARM est non négligeable, d'où la nécessité d'une surveillance régulière. Le portage du SARM dans le milieu hospitalier à la wilaya de Tébessa est préoccupant. Il est absolument nécessaire de contrôler la diffusion de ces souches pour le contrôle des épidémies à germes multi résistants.

Mots clés : antibiogramme, épidémiologie, milieu hospitalier, multirésistance, SARM.

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is a clinically important human pathogen linked to a variety of infections. The microbiological analysis based on morpho-physio-biochemical characteristics of **1200** hospital samples, which the objective is to determine the prevalence of *Staphylococcus aureus* resistant to methicillin (MRSA) in Tebessa area, revealed the presence of **250** strains of *S. aureus* with a rate of **20.83%**. Antibiogram accompanied by oxacillin screening (6 µg mL⁻¹) detected a number of **78** MRSA strains; with a rate of **31.2%**.

The epidemiological study revealed that the risk factors: age, nature of sampling and the use of β-lactams by patients have a relationship with MRSA infection. On the other hand; the presence of MRSA has no relation to the sex factor of the hospitalized patients. MRSA isolated from hospital samples has shown resistance to other families of antibiotics; the tetracycline family with a rate of **79.49%**, the macrolide (erythromycin) **51.28%** and certain aminoglycosides (amikacin and vancomycin) with **53.85** and **52.56%** respectively. The detection of methicillin resistance was completed by searching for the mec A resistance gene by PCR.

The multi-resistance of MRSA strains is significant, hence the need for regular monitoring. The carriage of MRSA in the hospital environment in Tebessa area is worrying. It is absolutely necessary to control the spread of these strains to control epidemics with multi-resistant germs.

Keywords: antibiogram, epidemiology, hospital environment, multidrug resistance, MRSA.

ملخص

تعتبر المكورات العنقودية الذهبية أحد مسببات الأمراض البشرية المهمة سريريًا وترتبط بمجموعة متنوعة من العدوى. أظهر التحليل الميكروبيولوجي القائم على الخصائص المورفوفيزيولوجية والكيميائية لـ 1200 عينة من المستشفيات ، والهدف منه تحديد مدى انتشار المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA) في ولاية تبسة ، عن وجود 250 سلالة من بكتيريا *S. aureus* بنسبة 20.83%. كشف المضاد الحيوي المصحوب بفحص أوكساسيلين (6 ميكروغرام مل-1) عن 78 سلالة من MRSA ؛ بنسبة 31.2%. كشفت الدراسة الوبائية أن عوامل الخطر: العمر وطبيعة أخذ العينات واستخدام β -lactam من قبل المرضى لها علاقة بعدوى MRSA من جهة أخرى؛ لا علاقة لوجود جرثومة MRSA بالعامل الجنسي للمرضى المقيمين في المستشفى. أظهرت جرثومة MRSA المعزولة من عينات المستشفى مقاومة لعائلات المضادات الحيوية الأخرى. عائلة النتراسيكلين بنسبة 79.49% ، عائلة الماكروليد (الإريثروميسين) 51.28% وبعض الأمينوغليكوزيدات (أميكاسين وفانكومايسين) بنسبة 53.85 و 52.56% على التوالي. تم الكشف عن مقاومة الميثيسيلين من خلال البحث عن جينة مقاومة *mecA* بواسطة PCR.

تعد المقاومة المتعددة لسلاسل MRSA مهمة ، ومن هنا تأتي الحاجة إلى المراقبة المنتظمة. إن نقل جرثومة MRSA في بيئة المستشفيات في ولاية تبسة أمر مثير للقلق. من الضروري للغاية التحكم في انتشار هذه السلالات للسيطرة على الأوبئة ذات الجراثيم المتعددة المقاومة.

الكلمات المفتاحية: المضاد الحيوي ، علم الأوبئة ، بيئة المستشفى ، مقاومة الأدوية المتعددة ، MRSA

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
01	La classification des <i>Firmicutes</i> basée sur l'analyse de l'ARN 16S	04
02	Les espèces du genre <i>Staphylococcus</i>	05
03	Principaux gènes régulés par Sar A	14
04	Principaux gènes régulés par le système Agr.	14
05	Le nombre et la répartition des prélèvements collectés	38
06	Les antibiotiques testés pour <i>S. aureus</i> selon CA-SFM 2020	45
07	Le milieu réactionnel pour l'amplification des souches	50
08	Etape de l'amplification d'un cycle	51
09	préparation du mix pour 09 tubes.	51
10	Distribution des souches <i>S. aureus</i> selon le type de prélèvement.	54
11	Répartition des <i>S. aureus</i> selon le biotype	58
12	Taux des SARM et SASM selon le type de prélèvement	63
13	Taux des SARM et SASM selon le sexe	63
14	Répartition selon l'âge des SARM et SASM.	64
15	Risque d'utilisation des β -lactamines	67
16	Phénotypes de résistance des SARM	69
17	Concentration des extraits d'ADN	73

Liste des Figures

N°	Titre	Page
01	Des colonies de <i>S. aureus</i> sur gélose au sang	06
02	Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i>	08
03	Structure de la paroi de <i>S. aureus</i>	09
04	Localisation schématique des différentes Infections bactériennes de la peau	16
05	impétigo bulleux	17
06	Folliculite	17
07	Furoncle	18
08	Les types d'antibiorésistance et ses caractéristiques	25
09	Acquisition des résistances par <i>S. aureus</i>	25
10	La structure de la cassette SCCmec.	30
11	Prélèvement de pus	39
12	Tube E swab pour prélèvement vaginal	40
13	Test de Catalase	42
14	Test de Coagulase	43
15	API STAPH	43
16	Organigramme de l'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	44
17	Technique d'antibiogramme	46
18	Test de Screening à l'oxacilline	47
19	L'analyse des prélèvements collectés des différents milieux hospitaliers	54
20	L'allure des colonies de l'espèce <i>aureus</i> sur Chapman.	55
21	<i>S. aureus</i> sur milieu G.N	56
22	Aspect de coloration de Gram de <i>S. aureus</i>	56
23	Résultat de test Catalase	57
24	Résultat positif de test de coagulase	57
25	Fiche de bio typage d'une souche <i>S. aureus</i> 6736153.	58
26	Résultat d'une API Staph pour la souche S15.	58
27	Présentation d'âge et du sexe des patients infectés par <i>S. aureus</i>	59
28	Répartition des souches <i>S. aureus</i> selon les sites de prélèvements	60
29	Répartition des souches <i>S. aureus</i> selon les services.	60
30	Atteinte par <i>S. aureus</i> selon les types d'infections	61
31	Test à la cefoxitine et à l'oxacilline	62
32	Test de screening	62
33	L'analyse des correspondances factorielles multiples (AFCM)	64
34	Le graphe biplot	65
35	Taux des souches SARM et SASM selon le type de service	66
36	Répartition des souches SARM et SASM selon le type d'infection.	66
37	Résistance des <i>S. aureus</i> aux antibiotiques testés	67
38	Résistance des SARM aux antibiotiques testés	68
39	Des souches SARM multi résistantes	70
40	Résistance des SASM aux antibiotiques testés	71
41	Des souches SARM non résistantes aux autres antibiotiques	72
42	Electrophorèse sur gel d'agarose du gène mec A	74

Liste des abréviations

SARM	<i>Staphylocoque aureus</i> résistant à la méthicilline.
SASM	<i>Staphylocoque aureus</i> sensible à la méthicilline.
SCN	Staphylocoques à coagulase négative
SCP	Staphylocoques à coagulase positive
SCC	Staphylococcal cassette chromosome
PCR	Polymérase chain réaction
PFT	sites de lésions où s'accumulent les plaquettes et les fibrines
Ox	Oxacilline
PRL	Pipiraciline
TTC	Tétracycline
V	Vancomycine
K	Kanamycine
Ofx	Oflaxacine
CD	Clindamycine
P	Pénicilline
IMP	Imipenème
CTX	Céfazoline
S	Streptomycine
GEN	Gentamicine
TM	Tobramycine
E	Erythromycine
FOS	Fosfomycine
RIF	Rifampicine
CA-SFM	Comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie
Agr	Accessory gene regulator
MLSB	Macrolides, Lincosamides et Stretogrammine Bismuth
PLP	Protéines liants pénicillines
PM	Poids moléculaire
SARM-H	SARM hospitalier

PARTIE
THEORIQUE



Introduction



Compte tenu de l'évolution rapide des infections acquises à l'hôpital, qui peuvent être causées par plusieurs facteurs liés à l'environnement hospitalier (**Guinness, 2017**). *Staphylococcus aureus* est l'un des micro-organismes ubiquistes les plus soupçonnés d'être à l'origine de ces infections (**Kollef et al., 2021**). Cette espèce pathogène a un caractère d'adaptation et de dissémination propagée en raison de sa forte pathogénicité sur la santé humaine (**Fluit, 2012**).

La bactérie *Staphylococcus aureus* est présente dans la flore cutanée et muqueuse des êtres humains (**Tong et al., 2015**). 30% des personnes ont un portage nasal permanent (**Djuikoue et al., 2022**). L'émergence et la diffusion mondiale de cette espèce toxigènes et multi résistantes ont relancé l'intérêt pour ces pathologies, bien que ce type de souche soit actuellement rare dans certains pays (**Nhan et al., 2012**). La reconnaissance précoce de ces infections est un véritable défi car une thérapie ciblée peut rendre meilleur le pronostic vital de ces patients (**Bahareh et al., 2021**).

Aujourd'hui, les infections à *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline (SARM) sont devenues un défi majeur en raison de leur propagation dans les établissements hospitaliers (**Ben redjeb et al., 2000**). Elles sont une cause fréquente d'épidémies; d'où son incidence se diffère d'un pays à l'autre, d'une région à une autre région, des conditions de vie de la population étudiées et la période ainsi que le milieu d'étude (**Mitevska et al., 2021; Shoaib et al., 2022**). On a observé une forte prévalence dans les pays asiatiques ; 64 % des cas de *S. aureus* à Shanghai provenaient de SARM (**Forestier et al., 2007**). On a rapporté des taux de prévalence en Amérique du Nord allant de 36 à 62,6% (**Skiest et al., 2007**). La fréquence des SARM est plus élevée dans les populations à risque (ayant des antécédents d'hospitalisation en soins intensifs, drogués, sans abris, chômeurs, VIH positif, anciens détenus...) (**Bader, 2006**). Les taux de SARM dans les pathologies à *S. aureus* varient de 20 jusqu'à 50 % dans quelques pays en Europe (**Benouda et al., 2009**). La prévalence des SARM en Afrique varie de 10 à 57 % (**Forestier et al., 2007; Elouennass, 2008; Ade, 2022**), avec un taux élevé dans les pays du sud-africains et une fréquence plus faible (inférieur à 10 % dans les pays du nord-africain). Pour la même notion de variabilité et les mêmes raisons, une recherche à Tlemcen a observé un taux de SARM d'environ 52 % en Algérie (**Rebiahi et al., 2011**) et

une autre étude menée à Annaba a estimé un taux de SARM d'environ 71 % (**Alioua, 2015**).

L'objectif dans ce travail était de déterminer la présence des souches SARM dans le milieu hospitalier de la wilaya de Tébessa dans le sud-est de l'Algérie.

- D'étudier les profils d'antibiorésistance des SARM comparés à diverses familles d'antibiotiques utilisés dans les hôpitaux.
- Rechercher le gène *mec A* résistant à la méthicilline en utilisant la PCR.
- Identifier quelques facteurs de risque associés au portage de SARM.

Le manuscrit est reparti en deux grands volets ; le premier est une synthèse bibliographique qui aborde des généralités sur l'espèce *S. aureus*, son épidémiologie, ses facteurs de virulence et sa résistance aux antibiotiques. Le second est la partie pratique ; comprend le matériel et les méthodes utilisés, les résultats et la discussion de ce travail et en fin une conclusion et des perspectives.



Chapitre I

Généralités sur

S. aureus



1. Historique

Robert Koch et Louis Pasteur ont observé les staphylocoques pour la première fois à la fin des années 1800. C'était la même période que Rosenbach isola des *Staphylococcus aureus* en culture pure (**Paterson et al., 2014**). Cette espèce commensale peut coloniser les êtres humains et plusieurs espèces animales (**Kehrenberg et al., 2009**). Le *S. aureus* peut être trouvé dans les aisselles, la cavité nasale et le système digestif humain (**Ekkelenkamp et al., 2006**).

La fosse nasale est la principale région anatomique occupée par le *S. aureus* ou ce portage peut être permanent ou temporaire. Pour le nombre important de ces facteurs de virulence ; *S. aureus* est le staphylocoque le plus virulent. Cette espèce peut provoquer plusieurs infections ; comme les infections de la peau, les pneumonies, les endocardites les ostéomyélites, et les intoxications alimentaires lorsque l'occasion se présente (**Kehrenberg et al., 2009**). La découverte du premier antibiotique a été grâce à une culture de *S. aureus*. En 1928, Alexander Fleming est retourné dans son laboratoire pour découvrir des cultures de *S. aureus* altérées par un champignon appelé « *Penicillium notatum* », qui a arrêté la croissance de cette culture bactérienne. Donc, il a découvert la pénicilline ; le premier antibiotique d'origine fongique (**De Boer, 2009**).

2. Classification

En termes taxonomiques, le genre *Staphylococcus* a été initialement inclus dans le genre *Micrococcus* dans la version la plus récente du Bergey's Manual, et il fait partie du phylum des *Firmicutes*. Les premières classifications des *Staphylococcus* et *Micrococcus* ont été créées dans les années 1900, les classant dans la famille des *Micrococcaceae*. La famille *Staphylococcaceae*, à laquelle appartient *S. aureus*, a récemment été créée grâce aux données de phylogénie moléculaire associées aux analyses chimiques de ces genres (**Accarias, 2014**). Selon la classification de **Garrity et al.**, le phylum des *Firmicutes* contient : *Clostridia*, *Mollicutes*, *Bacilli* et *Togobacteria* (**Tableau 1**). Les deux ordres de la classe des *Bacilli* sont les *Bacillales* et les *Lactobacillales* que chacun se divise en quatre familles. La quatrième famille des *Bacillales* est la famille des *Staphylococcaceae* qui contient le genre ; *Staphylococcus* dont le GC% est de 30% à 39% (**Edidah et al., 2023**). Le genre *Staphylococcus* est

phylogénétiquement proche des genres *Listeria* et *Bacillus*, et il joue un rôle important dans les pathologies humaines et animales (**Garrity et al., 2007**).

Tableau 1: La classification des *Firmicutes* basée sur l'analyse de l'ARN 16S (**Garrity et al., 2007**).

<p>*Phylum XIII : Firmicutes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Classe I : Clostridia • Classe II : Mollicutes • Classe III : Bacilli <ul style="list-style-type: none"> ○ Ordre I : Bacillales <ul style="list-style-type: none"> ▪ Famille I : <i>Bacillaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Bacillus</i> ▪ Famille II : <i>Planococcaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Planococcus</i> ▪ Famille III : <i>Listeriaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Listeria</i> ▪ Famille IV : <i>Staphylococcaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Staphylococcus</i> ○ Ordre II : Lactobacillales <ul style="list-style-type: none"> ▪ Famille I : <i>Lactobacillaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Lactobacillus</i> ▪ Genre : <i>Pediococcus</i> ▪ Famille II : <i>Enterococcaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Enterococcus</i> ▪ Famille III : <i>Leuconostocaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Leuconostoc</i> ▪ Famille IV : <i>Streptococcaceae</i> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Genre : <i>Streptococcus</i> ▪ Genre : <i>Lactococcus</i> • Classe IV : Togobacteria
--

La classification du *Staphylococcus* a été modifiée au fil du temps en utilisant les séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal 16S. Actuellement, 45 espèces et sous espèces de staphylocoques sont identifiables grâce à leurs caractères morpho-physio-biochimiques et leurs caractères moléculaires, ce dernier étant principalement utilisé pour les recherches épidémiologiques (**Morais et al., 2023**). 17 espèces sont reconnues chez l'homme, tandis que les espèces restantes ont été identifiées dans les denrées alimentaires ou chez l'animal (**Garrity et al., 2002**). Trois espèces sont particulièrement importantes dans la médecine humaine : *S. epidermidis*, *S. aureus* et *S. saprophyticus* (**Tableau 2**) (**Avril, 2003**). Il est également possible de les différencier en fonction d'un test d'une enzyme nommée « coagulase libre ». Le test de coagulase, qui signifie coagulation du sang, permet d'identifier cette enzyme au laboratoire (**Le Galudec et al., 2023**). Il est possible de faire la distinction entre 40 espèces à coagulase négative (SCN) et 07 espèces

possédant une coagulase positive (SCP) ; comme le *S. aureus*. Les espèces SCN sont moins virulentes. La plupart des espèces commensales de la peau et des fosses nasales, notamment : *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* (**Barbier, 2015**).

Tableau 2 : Les espèces du genre *Staphylococcus* (**Garrity et al., 2002**)

<i>S. arlettae</i>	<i>S. intermedius*</i>
<i>S. aureus</i> subspecies <i>aureus*</i>	<i>S. kloosii</i>
<i>S. aureus</i> subspecies <i>anerobius</i>	<i>S. lentus</i>
<i>S. auricularis*</i>	<i>S. lugdunensis*</i>
<i>S. capitis</i> subspecies <i>capitis*</i>	<i>S. lutrae</i>
<i>S. capitis</i> subspecies <i>urelyticus</i>	<i>S. muscae</i>
<i>S. caprae*</i>	<i>S. pasteurii*</i>
<i>S. carnosus</i> subspecies <i>carnosus</i>	<i>S. piscifermentans</i>
<i>S. carnosus</i> subspecies <i>utilis</i>	<i>S. pulvereri</i>
<i>S. chromogenes</i>	<i>S. saccharolyticus*</i>
<i>S. cohnii</i> subspecies <i>cohnii*</i>	<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>saprophyticus*</i>
<i>S. cohnii</i> subspecies <i>urealyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>bovis</i>
<i>S. condimenti</i>	<i>S. schleiferi</i> .subspecies <i>schleiferi*</i>
<i>S. delphini</i>	<i>S. schleiferi</i> subspecies <i>coagulans</i>
<i>S. epidermidis*</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>sciuri</i>
<i>S. equorum</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>carnaticus</i>
<i>S. felis</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>rodentium</i>
<i>S. fleurettii</i>	<i>S. simulans*</i>
<i>S. gallinarum</i>	<i>S. succinus</i>
<i>S. haemolyticus*</i>	<i>S. vitulinus</i>
<i>S. hominis</i> subspecies <i>hominis*</i>	<i>S. xylosum*</i>
<i>S. hominis</i> subspecies <i>novobiosepticus</i>	<i>S. warneri*</i>
<i>S. hyicus</i> subspecies <i>hyicus</i>	

(*) : Espèces humains

3. Caractères phénétiques

3.1. Caractères morphologiques

Les staphylocoques sont regroupés en amas de bactéries irréguliers ou en groupes de deux (diplocoques) ou de quatre (tétraèdres). Ogston (1884) a nommé ces bactéries parce que ces petits amas forment souvent des grappes. Elles sont des cocci à Gram-positifs d'environ 0,5 à 1 µm de diamètre. Elles sont immobiles, asporulées et parfois encapsulées, mais après culture, les capsules peuvent disparaître (**Sato et al., 2019**).

3.2. Caractères cultureux

Le *S. aureus* est une bactérie aérobie-anaérobie facultative, qui pousse rapidement entre 10 et 45 °C dans des conditions normales (Morgene, 2018). Après 24 heures d'incubation, il est possible que *S. aureus* se développe sur une gélose trypticase-soja supplémentée de sang ou non. Les colonies en culture sur ce milieu sont de 1 à 3 mm de diamètre, rondes, convexes, lisses et pigmentées en jaune d'or. Il est important de souligner que le *S. aureus* a la capacité de pousser dans des milieux hostiles, tels que la gélose Chapman (un milieu hyper salé) ; qui est un milieu sélectif pour l'isoler. Ce milieu peut aussi différencier le staphylocoque d'un prélèvement poly microbien du *S. epidermidis* (Couture, 1990).

En milieu liquide, la culture se produit rapidement; après quelques heures, un trouble homogène non pigmentés se manifeste, suivi d'une sédimentation d'un culot (Kloos, 1972).

Les colonies sur gélose au sang apparaissent plus grandes avec une pigmentation d'une intensité variable. Les colonies de *S. aureus* peuvent être β -hémolytiques sur la gélose au sang (Okou, 2013).

Il faut noter qu'en bactériologie alimentaire, le milieu de Baird Parker est utilisé pour isoler et caractériser le staphylocoque. Il est composé de téllurite, glycine, pyruvate et le jaune d'œuf (De Lencastre *et al.*, 1997).



Figure 1: Des colonies de *S. aureus* sur gélose au sang (Lowy, 1998)

3.3. Caractères physiologiques

Le *S. aureus* est une bactérie qui peut être cultivée dans les milieux aérobies qu'anaérobies, y compris la gélose nutritive et le bouillon nutritif, ainsi que dans le milieu sélectif Chapman. Il s'agit d'une bactérie mésophile (37°C), neutrophile (pH7) et halophile (avec des concentrations élevés de chlorure de sodium). Certains inhibiteurs bactériens tels que le tellurite de potassium et le cristal violet sont inactif sur le *S. aureus* (Wertheim, 2005).

3.4. Caractères biochimiques

S. aureus sont aérobies ou anaérobies, mais ils ne produisent pas l'oxydase. Elles sont : indole négative, acétoïne et uréase positifs, transformant le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites et transformant l'ammoniaque en arginine (Touaitia, 2016). Le métabolisme glucidique est particulièrement fascinant ; glucose, saccharose, lactose et mannitol sont fermentés. Le glucose et le mannitol sont utilisés à la fois en anaérobiose et en aérobiose (Nhan *et al.*, 2012).

4. Caractères moléculaires

4.1. Génome

Le génome de *S. aureus* est complexe et variable. Il possède un chromosome circulaire avec 2,8 à 2,9 (Mpb) et un plasmide contenant environ 30 gènes (Foster, 2015). Presque la totalité du génome (75 %) est hautement conservé, selon le séquençage et l'analyse de l'ADN bactérien des différentes lignées de *S. aureus* (Lindsay et Holden, 2004). Les gènes présents dans les régions conservées participent à la réplication de l'ADN et à son expression génétique, pour le reste présente une variabilité génétique significative. Il est destiné à des fonctions non obligatoires à la survie. Les éléments génétiques mobiles de ces régions variables sont obtenus par des différents transferts horizontaux (conjugaison, transduction et transformation) (Fitzgerald *et al.*, 2001).

Les prophages, les transposons, les séquences d'insertion, les plasmides, les cassettes chromosomiques, les îlots de pathogénicité et les îlots génomiques font partie de ces éléments génétiques mobiles (Malachowa, 2010). Ils contiennent souvent un ou plusieurs gènes qui confèrent à la bactérie un avantage sélectif, comme la résistance à un antibiotique ou l'expression d'un facteur de virulence (Chua, 2014). Par conséquent, la

SCC (cassette chromosomique staphylococcale) qui porte le *mecA* ; le gène de résistance à la méticilline est sans doute l'élément génétique mobile le plus connu chez les *S. aureus*. Par conséquent, son génome accessoire comprend tous les gènes de résistance aux antibiotiques et les facteurs de virulence (Bernier, 2015).

5. Facteurs de virulence

Une variété de facteurs, principalement trois catégories de facteurs de virulence, ont une influence sur la pathogénie de *S. aureus*. Ces trois catégories comprennent ; les protéines de surface, les protéines sécrétées par *S. aureus* et les composants de paroi (Domenjod, 2018). La variété de ces facteurs de virulence est due à la plasticité génomique de la bactérie grâce aux éléments génétique mobiles (plasmides, les transposons ou les bactériophages) (Dufour *et al*, 2002).

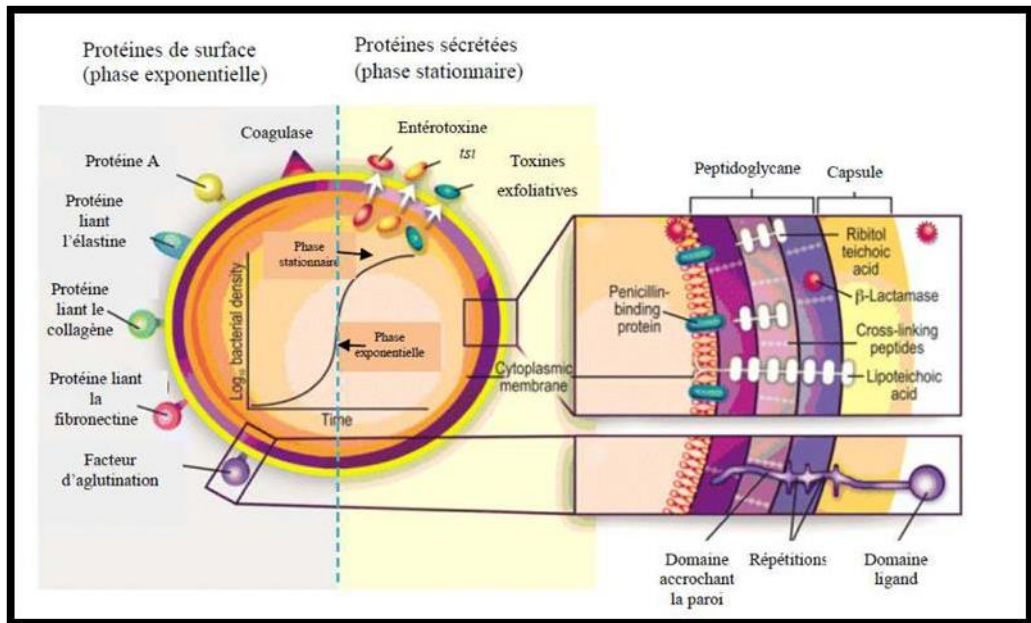


Figure 2: Facteurs de virulence de *S. aureus* (Lowy, 1998).

5.1. Les composants de la paroi et la capsule

5.1.1. Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est composé de deux sous-unités polysaccharidiques alternées ; N-acétylglucosamine et N-acétylmuramique liés avec des liaisons (β -1,4). Il est le composant structurel principal de la paroi bactérienne. Les chaînes peptidoglycanes déterminent la forme, la rigidité et la protection de la paroi cellulaire contre la lyse osmotique (Sutton *et al.*, 2021).

Les macrophages libèrent des cytokines en réponse au peptidoglycane, ce qui active le système de complément. Il provoque l'agrégation des plaquettes qui entraînent une coagulation intravasculaire propagée (Durand, 2009).

5.1.2. La capsule

Les capsules polysaccharidiques produites par quelques *S. aureus* provoquent 75 % des infections graves. Elles enveloppent la surface de la bactérie. Les opsonines sont les protéines structurales de la capsule reconnues par les cellules phagocytaires (Messad, 2016).

5.1.3. L'acide teichoïque

Ces éléments ont une activité similaire aux endotoxines, ce qui stimule la libération intense de cytokines par la classe des lymphocytes monocytaires, donc l'activation du complément et l'agrégation plaquettaire (Angandza, 2012).

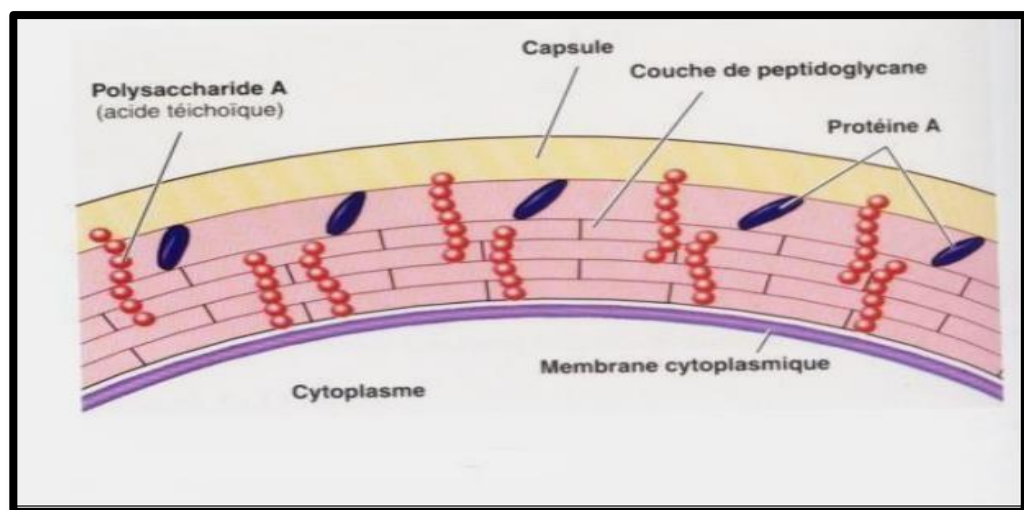


Figure 3: Structure de la paroi de *S. aureus* (Spicer, 2003).

5.2. Les protéines de surface

En grande partie, elles se fixent aux peptidoglycanes, ce qui permet à *S. aureus* de s'attacher aux cellules. Au niveau moléculaire, cinq protéines de surface ont été identifiées (El Kouir, 2003).

- 5.2.1. **La protéine A (Spa pour *staphylococcal protein A*):** le facteur primordial pour l'établissement des infections endo-vasculaires. C'est la protéine qui lie le fragment Fc des immunoglobulines G (IgG) (Tasseau, 1989).
- 5.2.2. **La protéine de liaison au collagène de type I, II et IV:** elle joue un rôle dans les infections ostéo-articulaires (Tasseau, 1989).
- 5.2.3. **La protéine de liaison à la fibronectine:** elle a le rôle de liaison de *S. aureus* aux caillots plasmatiques et aussi aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Elle a un rôle très important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers (Boden et Flock, 1989).
- 5.2.4. **Les protéines de liaison au fibrinogène:** nommée aussi Clumping factor: c'est un récepteur pour le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Elle joue un rôle dans les infections des plaies et les infections sur corps étranger (Boden et Flock, 1989).
- 5.2.5. **La protéine de liaison à l'élastine (EbpS):** une molécule transmembranaire associée à la surface de la cellule (Boden et Flock, 1989).

5.3. Les protéines sécrétées et toxines

5.3.1. Les enzymes

De nombreuses enzymes contribuent à la virulence de *S. aureus*, y compris ; protéase, hyaluronidase, collagénase, lipase et nucléase (Merlet, 2010).

- **L'hyaluronidase :** elle hydrolyse l'acide hyaluronique. Elle peut lyser le tissu conjonctif et l'infecte.
- **Les lactamases :** inactivent la pénicilline. Les protéines liées à la pénicilline, ou PBP, se trouvent dans la membrane cytoplasmique. Lorsqu'elles sont modifiées, elles offrent une antibio-résistance à la famille des β -lactamines (Loulergue et Tourret, 2003).
- **La nucléase :** ou DNA ase, elle est résiste aux températures élevée et montre son activité enzymatique sur des milieux qui contient de l'ADN comme molécule de base et le bleu de toluidine.

- **Les lipases** : Il y a trois d'entre elles : les lipases, les phosphatases et les estérases. Les phosphatases se trouvent au niveau de l'acide teichoïque sur la membrane cytoplasmique.
- **Les protéases** : sont au nombre de trois ; la métalloprotéase, la thiolprotéase et la sérine protéase.

5.3.2. Les toxines

Les membranes cellulaires sont ciblées par les toxines que *S. aureus* produit. Ces toxines se fixent aux cellules cibles et créent des canaux membranaires qui permettent aux ions de passer.

- **Les hémolysines** : Il y a eu l'identification de quatre hémolysines distinctes, chacune ayant une action spécifique sur les globules rouges (**Kloo, 1981**).
 - **α -hémolysine ou α -toxines** : Elle a une fonction cytotoxique et cytolytique contre plusieurs cellules comme les fibroblastes, les érythrocytes et les leucocytes. Elle est une exotoxine protéique de poids moléculaire égal à 33 KDa, thermostable et réactivée à 100°C (**David, 2010**).
 - **β -Hémolysine ou β -toxine** : Elle a un poids moléculaire égal à 26 KDa et elle sensible à la chaleur. Elle affecte une variété de cellules ; les fibroblastes, les hématies et les leucocytes. Son activité hémolytique est de type « chaud-froid » : les hématies sont lysés à 4°C et ne sont pas lysés à 37°C (**Gras, 2006**).
 - **γ -hémolysine ou γ -toxine** : Le cholestérol inhibe l'action de l'hémolysine ou de la toxine. La sous-unité I est composée de PM à 29 KDa et la sous-unité II est composée de PM à 26 KDa. Elle exerce une activité antigénique (**Merlet, 2010**).
 - **Delta-toxine ou delta-hémolysine** : Elle a un poids moléculaire égal à 3 kDa. La majorité des souches *S. aureus* en phase stationnaire la synthétisent. Bien que ce peptide puisse lyser les érythrocytes, la présence de phospholipides entrave son activité (**Gras, 2006**).
- **La toxine de leucocidine de Panton-Valentine** : elle appartient à la famille des synergohyménotropes. Les deux protéines agissent en synergie sur les membranes cellulaires bien qu'elles ne soient pas liées. Ces toxines se fixent aux cellules cibles (polynucléaires, monocytes et macrophages) et créent des canaux membranaires qui permettent aux cations divalents de passer (**Voilliot, 2012**).

- **Les super antigènes** : sont des molécules qui se lient directement et avec une forte affinité au système majeur d'histocompatibilité de classe II des cellules qui possèdent des antigènes. Cela provoque la stimulation des lymphocytes T. Le choc toxique ainsi les dermites exfoliatives sont les maladies les plus connues qui sont liées à ces molécules super antigéniques (**Merlet, 2010**). *S. aureus* possède deux classes :
 - **Les entérotoxines** : sont responsables des intoxications d'origine alimentaire et aussi du choc toxique staphylococcique (**Gras, 2006**).
 - **Exfoliatines** : Il existe deux types d'exfoliatines : la toxine exfoliatrice A codée sur un gène chromosomique, et la toxine exfoliatrice B codée sur un gène plasmidique (**Batard et al., 2007**).

5.4. La régulation de la virulence

Pour garantir la propagation dans la cellule infectée, *S. aureus* doit harmoniser l'expression de ses différents facteurs de virulence au cours de l'infection (**Novick, 2003**). Un réseau complexe de réglementations accompagne cette régulation. Chaque membre de ces systèmes influence les gènes cibles directement ou indirectement (**Somerville et Proctor, 2009**). Il existe trois types de régulateurs :

5.4.1. Les facteurs de transcription

- **Sar A** : L'insertion du transposon Tn917 LTV1 a permis d'identifier le locus sar A, également connu sous le nom de locus regulatory staphylococcal accessory, qui a eu une variété d'effets sur l'expression des exotoxines et des protéines de la paroi. La protéine Sar A de 15 kDa est codée par ce gène (**Cheung et Projan, 1994**). Les trois cadres de lecture de l'opéron sar A produisent différents transcrits terminés par le même terminateur (**Manna et al., 1998**). De nombreux gènes de virulence sont directement régulés par Sar A (**tableau 3**). Il réprime la transcription de certaines enzymes et d'adhésines (**Lindsay et Foster, 1999**). Il intervient également dans la structure des biofilms en induisant l'opéron nommé ica (**Akoua-Koffi et al., 2004**). Plus de 120 gènes seraient régulés par Sar A, selon une étude du transcriptome (**Dunman et al., 2001**).

5.4.2. Les systèmes à deux composants

- **Le système Agr** : qui signifie Accessory Gene Regulator, il est un système à deux composants. Les gènes de virulence sont touchés à deux reprises par ce système. Il induit l'étape de la transcription de certaines exoprotéines (toxines, hémolysine et leucotoxines) et empêche la transcription des protéines en relation avec la paroi bactérienne (protéine A, protéine de liaison à la fibronectine, coagulase et autres) (Cheung *et al.*, 1992). Selon une étude transcriptomique, ce système peut aussi induire l'activation de presque 100 gènes et réprime au-delà de trentaine de gènes (tableau 4) (Morais *et al.*, 2023).
- **Le locus walkR** : il est nécessaire pour la survie de *S. aureus*. Ce locus est responsable de la régulation de 9 gènes du métabolisme de la paroi, selon des études de bioinformatique et de transcription. La division cellulaire est perturbée par l'épaisseur de la paroi causé par la délétion de walkR (Dubrac *et al.*, 2007). De plus, il est responsable de réguler positivement la production de biofilm (Dubrac *et al.*, 2007), de l'attraction des globules blancs (neutrophiles) et la synthèse des cytokines (Delaune *et al.*, 2012).

5.4.3. Les ARN régulateurs

Ils régulent certains gènes de virulence et contrôlent les gènes responsables du métabolisme bactériens. Chez *S. aureus*, l'ARN III régule l'expression de plusieurs gènes. Plusieurs études ont montrés l'existence de nombreux autres ARN régulateurs (Gerke *et al.*, 1998).

5.4.4. La régulation de la virulence in vivo chez l'homme

S. aureus peut survivre dans diverses conditions grâce à son large répertoire de régulation. Ces régulateurs ont été démontrés pour l'importance cruciale dans la régulation des gènes de virulence in vitro. Il est clairement établi que la phase de croissance de la bactérie in vitro affecte son expression génétique. Actuellement la question qui se pose est de savoir si l'expression génétique diffère entre les bactéries commensales et les bactéries pathogènes, ainsi entre les différents types des souches pathogènes qui provoquent les infections. Il est nécessaire d'établir un profil d'expression de ces bactéries pour comprendre les phénomènes responsable du changement d'un état commensal à un état pathogène (Goerke *et al.*, 2000).

Tableau 3 : Principaux gènes régulés par Sar A (Cheung *et al.*, 2004).

	<i>sarA</i>
Auréolysine	-
Entérotoxine B	+
Hémolysine α	+
Hémolysine β	+
Hémolysine δ	+
Hémolysine γ	+
FAME	+
Lipase	-
Protéases (SlpA, B, D & F)	+
Cystéine protéase (SspB)	-
TSST-1	+
Protéase V8	-
Clumping Factor B	+
Coagulase	+
Cna	-
Polysaccharide capsulaire	+
FnbpA	+
FnbpB	+
LrgAB	-
Protéine A	-

(-) signifie une répression et (+) une activation

Tableau 4 : Principaux gènes régulés par l'Agr (Dunman *et al.*, 2001).

	<i>agr</i>
Auréolysine	+
Entérotoxine B	+
Entérotoxine C	+
Hémolysine α	+
Hémolysine β	+
Hémolysine δ	+
Hémolysine γ	+
Exfoliatines A & B	+
FAME	+
Hyaluronate lyase (HysA)	+
Lipase	+
Phospholipase C	+
Protéases (SlpA, B, D & F)	+
Staphylokinase	+
TSST-1	+
Protéase V8	+
Coagulase	-
Cna	+/-
Polysaccharide capsulaire	+
FnbpA	-
FnbpB	-
GyrA	-
LrgAB	+
Protéine A	-
Protéine liant la vitronectine	-

(-) signifie une répression et (+) une activation.



Chapitre II

Les infections à SARM



1. Définition

Depuis les années 1970, de nombreuses infections communautaires et nosocomiales ont été causées par *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (**Lowy, 1998**). L'espèce humaine a utilisé des antibiotiques à mauvais escient pour choisir involontairement des souches résistantes, ce qui a conduit à ces infections (**walsh, 2023**). Actuellement, les infections nosocomiales à SARM sont encore un problème important diffusé dans les hôpitaux, mais elles sont contrôlées et moins nombreuses grâce à la prise de conscience des praticiens en cliniques (**Le Minor et Veron, 1990**). Ce chapitre traite les infections à SARM, les différents types d'infections et les méthodes de prévention.

2. Pouvoir pathogène

Le *S. aureus* à coagulase positive (SCP) possède un potentiel pathogénique élevé par rapport au *S. aureus* à coagulase négative (SCN) et peut provoquer des infections nosocomiales et communautaires extrêmement graves (**Nauciel, 2005**). Contrairement à cela, les SCN sont généralement des bactéries opportunistes qui sont principalement responsables d'infections nosocomiales (**Leclercq, 2002**). La prolifération bactérienne, l'invasion puis la destruction des tissus de l'hôte et la réponse inflammatoire locale et systémique sont toutes des caractéristiques des infections suppuratives (**Breche et al., 1988**). Les infections suppuratives locorégionales sont principalement causées par *S. aureus*. Les infections cutanéomuqueuses sont les formes les plus fréquentes de cette espèce (**Fauchere et Avril, 2002**).

3. Les différents types d'infections cutanées provoquées par le SARM

Diverses pathologies cutanées sont causées par les SARM ; principalement les folliculites, l'impétigo, les furoncles, l'anthrax et les cellulites (**Fauchere et Avril, 2002**).

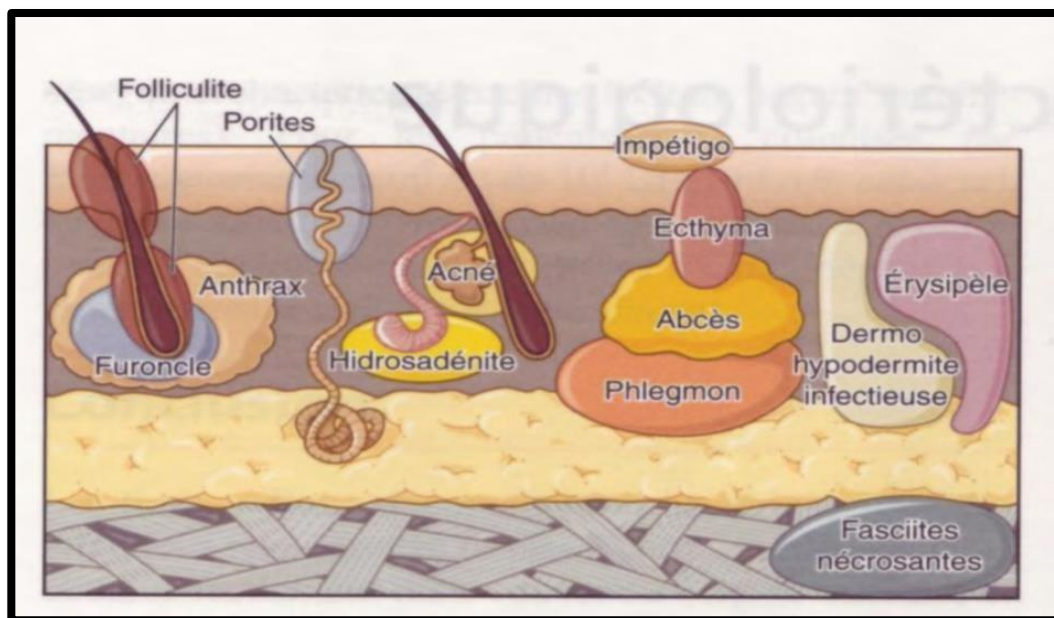


Figure 04 : Localisation schématique des différentes Infections bactériennes de la peau (**MAZEREEUW, 2006**).

3.1. L'impétigo : une infection superficielle de la peau fréquente et contagieuse qui se produit principalement chez les enfants de moins de 10 ans. Les streptocoques (principalement du groupe A) sont également responsables de l'impétigo, en plus du *S. aureus* (**Le Loir et Gautier, 2010**). L'impétigo se produit souvent sous forme d'épidémie, surtout en période estivale et dans les milieux scolaires. Les climats chauds et humides, la promiscuité et la mauvaise hygiène sont les principaux facteurs favorisant (**Ferron, 1984**). Les lésions sont généralement localisées sur les parties découvertes et au niveau du visage. Si les blessures sont trop graves, l'hygiène des mains et l'éviction scolaire sont les principaux moyens de prévenir la contagion. L'impétigo bulbeux, l'impétigo commun (ou non bulbeux) et l'ecthyma sont les trois manifestations cliniques de la maladie (**Robert et al., 2017**).



Figure05: impétigo bulleux

3.2 Les folliculites : sont fréquemment causées par *S. aureus*. L'apparition soudaine de papulopustules inflammatoires autour d'un orifice pileux les caractérise (**Dennis et al., 2014**). Certaines maladies chroniques sont les principaux facteurs favorisant cette infection. Plusieurs types de folliculites existent également ; l'ostéofolliculite superficielle, la folliculite profonde touche la partie profonde du follicule pilosébacée, et le sycosis apparaît sur le visage et touche la barbe. Le frottement, la macération, les dermocorticoïdes et la manipulation des plaies sont des facteurs locaux qui les favorisent (**Lina et al., 1999**).



Figure 06 : Folliculite

3.3 Le furoncle : Il est une masse qui contient de pus, douloureuse, ferme ou fluctuante et se développe d'une folliculite profonde. Le furoncle se développe spontanément en 5 à 10 jours, entraînant l'élimination du follicule nécrotique central jaunâtre qui laisse une cicatrice importante. La furunculose est une maladie où les blessures récidivent et se propagent fréquemment, en particulier chez les jeunes hommes. En général, la furunculose ne dure pas plus de deux ans (**David et al., 2016**).



Figure 07 : Furoncle

3.4. L'anthrax : la fusion de plusieurs furoncles provoque une tuméfaction cratériforme profonde et inflammatoire. Il peut être accompagné de poussées purulentes et de symptômes tels que la fièvre ou un syndrome inflammatoire. Les soins prodigués aux furoncles sont identiques. La sécrétion de toxines comme la PVL explique le caractère nécrotique de l'anthrax (**Jarraud *et al.*, 2000**).

3.5. La staphylococcie maligne sur le visage : Elle apparaît généralement après avoir traité une folliculite ou un furoncle au niveau de la face. Le patient a un aspect tuméfié douloureux, unilatéral avec une couleur rouge violacé. Il peut y avoir un état général très altéré avec une fièvre de 40°C. Une inflammation du tissu cellulaire rétro-orbital ou des thromboses des veines faciales peuvent survenir, ce qui augmente le risque de thrombophlébite du sinus caverneux (**Jarraud *et al.*, 2000**).

4. Prophylaxie et antibiothérapie des infections cutanées

Les mesures d'antisepsie et d'hygiène de chaque individu et collectivité constituent le principe de la prophylaxie. La propagation directe des souches entre les humains est basée sur le portage manuel, surtout en milieu hospitalier (**Baran *et al.*, 2023**). Les praticants hospitaliers qui sont toujours en contact direct avec les malades et les patients aussi peuvent être infectés par des staphylocoques, en particulier des SARM.

Les SARM sont fréquemment responsables d'infections nosocomiales en raison de leur multi résistance aux antibiotiques. Lorsque les mesures d'hygiène et d'isolement ne sont pas respectées, le personnel soignant est le responsable majeur de la propagation (**Dennis *et al.*, 2014**).

Chez les patients devant subir une chirurgie orthopédique ou cardiaque par exemple, la détection de la colonisation à *S. aureus* associée à la décolonisation est de plus en plus préconisée en plus de l'antibioprophylaxie. Enfin, des vaccins contre les staphylocoques sont en cours de développement (**Gérard et al., 2015**).

5. Infections non suppuratives d'origine toxique

Les syndromes d'origine staphylococciques sur la peau, les chocs staphylococciques et les intoxications alimentaires sont les toxémies staphylococciques causées par *S. aureus*. Elles peuvent être provoquées par la diffusion de toxines d'un foyer infectieux ou d'un site de colonisation ou la toxine est produite in vivo (**Desenclos, 1996**). En revanche, Les intoxications alimentaires sont causées par la prise de la toxine libérée des bactéries dans l'aliment contaminé (**Batard, 2007**).

5.1. Syndromes cutanés staphylococciques

Le syndrome de la peau chez les adultes est provoqué par la propagation d'exfoliatines. Chez les nourrissons, il est connu sous le nom de syndrome de Ritter (**Bonilla et al., 2010**). Le foyer initial peut être cutané, ORL ou conjonctival. Il affecte les petits enfants, les sujets âgés immunodéprimés et les patients atteints d'insuffisance rénale (**Larry, 2021**). Au niveau des bulles, le staphylocoque n'est pas présent. Ce syndrome peut être traité par la prise d'un antibiotique adéquat si non le risque d'aggravation de la maladie estimé à environ 4 % de décès en cas de retard d'antibiothérapie (**Gallibot, 2007**).

5.2. Toxi- infections alimentaires

Elles sont causées par les entérotoxines secrétées par *S. aureus* qui existe déjà dans l'aliment, altérés ou non par les sucs digestifs, plutôt que par des infections réelles avec multiplication bactérienne dans le tractus digestif (**Chavakis et al., 2005**). Le résultat clinique est remarquable et se produit de 02 à 06 heures après l'ingestion d'un aliment. Dans un état non fébrile, les symptômes commencent brusquement avec des nausées et peut être vomissements, des douleurs abdominales, une diarrhée abondante et des céphalées (**Archer, 2001**).

5.3. Entérocolites aiguës

Un patient qui a reçu un antibiotique à large spectre pendant une période prolongée et qui a été mal absorbé par la muqueuse intestinale, par conséquent, les symptômes de la maladie commencent par une diarrhée intense avec une déshydratation rapide, qui peut entraîner la mort (**Da Silva et al., 2020**). La multiplication rapide de *S. aureus* productrice des entérotoxines dans le tube digestif provoque ces entérocolites aiguës. Cette souche détruit et remplace la flore intestinale normale. Par conséquent, la muqueuse intestinale est tapissée de membranes altérées avec des ulcères et des hémorragies (**Archer, 2001**).

5.4. Syndrome du choc toxique

L'action du TSST-1 peut parfois provoquer un syndrome appelé « choc staphylococcique toxique » causé par une infection à *S. aureus*. Il est associé à des symptômes de défaillance poly viscérale, cérébrale, rénale, hépatique et musculaire, ainsi qu'à une fièvre, une diarrhée, une hypotension et une éruption scarlatiniforme (**Avril, 2003**). Il peut provoquer un taux de mortalité dans deux situations ; chez certains femmes pendant la période menstruelle, et chez les sujets présentant une suppuration localisée à *S. aureus* (**Naimi et al., 2001**).

6. Septicémies à *S. aureus*

Les septicémies sont dangereuses et fréquentes, surtout chez les personnes immunodéprimées et les nourrissons (**Ferron, 1984**). Ce sont des effets secondaires des blessures suppuratives et des crises suraiguës qui peuvent être mortelles en quelques heures, tandis que les crises aiguës présentent de nombreuses métastases suppurées (**Nauciel, 2005**). Elles causent un danger très grave qui se complique vers des métastases septiques (**Breche et al., 1988**). La staphylococcie maligne de la face par exemple commence par un furoncle qui touche les lèvres ou les narines puis peut se compliquer à une thrombophlébite accidentelle. Il existe différents types de localisations (**Dumitrescu, 2010**):

-**Les staphylococcies osseuses** : Les infections osseuses après une chirurgie à staphylocoques sont les plus touchées.

-**Les staphylococcies pleuropulmonaires** : sont les plus courantes chez les nourrissons, tandis que les formes adultes sont rares mais sporadique après une grippe virale.

- **Staphylococcies urogénitales** : les staphylococcies urogénitales sont assez fréquentes, et provoquent des abcès au niveau du rein.

-**Les staphylococcies neuroméningées** : peu courantes et provoquent des méningites, ce qui est particulièrement courant dans les environnements neurochirurgicaux.

- **Les endocardites** sont fréquentes chez les cardiaques ayant des valves artificielles et chez les toxicomanes (endocardites du cœur droit) (**Dennis *et al.*, 2014**).

7. Pathogénie et immunité

7.1. Pathogénie

Contrairement aux porteurs sains, les souches isolées des lésions présentent souvent des "marqueurs de virulence" tels que : les antigènes de surface, la sécrétion de toxines et d'enzymes et une activité métabolique intense (**Foster, 2019**).

Ces capacités sont présentes à l'état potentiel dans toutes les souches de staphylocoques. Seules l'exfoliatine et l'entérotoxine ont un rôle pathogénique bien défini en raison de leurs effets biologiques; certains autres contribuent à la production de la maladie, mais aucune ne joue un rôle déterminant de manière isolée (**Kim, 2019**). Les lésions initiales se manifestent au niveau du site de l'infection, avec des symptômes inflammatoires au début, avant de se transformer rapidement en nécroses caractéristiques de l'infection staphylococcique ou une pyogénie. (**Clermont-Ferrand, 2013**).

7.2. Immunité

En raison de la fréquence du portage de ces microorganismes, la population possède une immunité naturelle efficace contre les staphylocoques. Cela explique la faible fréquence des staphylococcies en comparaison avec le risque d'infection par une autre espèce pathogène. Même une infection grave ne modifie guère cet état immunitaire. Les récurrences, les rechutes et le passage à la chronicité sont courants (**Nauciel, 2005**).

7.2.1. Immunité humorale

Le taux d'anticorps élevés circulants contre les antigènes de paroi de staphylocoques peut être utilisé pour montrer cette immunité. Ces anticorps sont des opsonines qui aident les polynucléaires et les macrophages à produire des cellules phagocytotiques. De plus, les anticorps anti-staphylolysine et anti-enzymes apparaissent fréquemment dans le sérum lors des infections aiguës et participent par leur activité neutralisante à la disparition de la maladie. Bien qu'il y ait une immunité naturelle puissante, ces infections sont courantes et ceci dû à la variété des souches antigéniques présentes (**Breche *et al.*, 1988**).

7.2.2. Immunité cellulaire

Les staphylocoques se reproduisent à l'extérieur des cellules. Ils sont principalement détruits dans le foyer infectieux initial par les polynucléaires et les macrophages (**Acharya *et al.*, 1994**). Les opsonines et le complément favorisent la phagocytose qui se produit au point d'inoculation des germes. Il est important de noter que la suppression des staphylocoques au niveau cellulaire n'est pas totale que celle pour les autres Cocci pyogènes tels que les streptocoques et les pneumocoques. Notons que ce phénomène inflammatoire cellulaire non spécifique joue un rôle crucial dans la résistance aux différents types d'infections (**Breche *et al.*, 1988**)



Chapitre III

Résistance aux antibiotiques



1. Définition

L'inutilité de l'action d'un antibiotique via une atteinte par des bactéries est connue sous le nom d'antibiorésistance. La prise abusive d'antibiotiques est l'une des causes importantes de cette résistance. La présence d'antibiotiques dans l'organisme favorise la sélection de bactéries résistantes, soit naturellement, par mutation ou par échange d'un support génétique (plasmide) avec d'autres bactéries (**Ficca et al., 2006**). Les bactéries sensibles seront éliminées par les antibiotiques absorbés, laissant place aux bactéries résistantes. Ils peuvent se propager entre les personnes, en particulier dans les milieux de soins. Ils rendent les traitements antibiotiques suivants moins efficaces pour le patient et la collectivité (**Lezzar, 2017**).

2. Mécanisme d'action des antibiotiques

Ils agissent sur quelques structures bactériennes d'une manière spécifique ; les antibiotiques sont actifs sur les bactéries ciblées à des concentrations très faibles de l'ordre de $\mu\text{g/ml}$. Ils peuvent empêcher une étape dans leur développement, comme la synthèse de leur paroi, la réplication de l'ADN, les protéines, la production d'énergie, ...etc.

2.1. Mécanisme sur la paroi

Les β -lactamines est la famille des antibiotiques qui agissent sur la paroi bactérienne spécifiquement sur les protéines liant la pénicilline (PLP). Les PLP sont des protéines qui participent à la synthèse des parois. Ils se trouvent à l'extérieur de la membrane cytoplasmique. Cette liaison forte entre les PLP et les β -lactamines bloque les réactions de l'acylation des PLP par les β -lactamines et stimule l'activité des auto-lysines. Les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames sont les β -lactamines les plus connus. Les souches de *S. aureus* possèdent quatre PLP essentiels pour la survie: PLP1, PLP2, PLP3 et PLP4 accessoires (**Robert, 2013**).

2.2. Mécanisme sur la synthèse des protéines

Les aminosides affectent la production des protéines et la traduction des acides ribonucléiques messagers (ARNm) (**Robert, 2013**). Chimiquement, on distingue : la classe des streptomycines et la classe des kanamycine, gentamicine et l'amikacine (**Quincampoix et Mainardi, 2001**). La gentamicine est bactéricide contre *S. aureus*, il

se propage passivement dans la bactérie ou il est transportée vers les ribosomes, entrave la sous-unité 30S des ribosomes, qui gère la formation du peptide en lisant l'ARNm. Des protéines appelées « non-sens » sont obtenues de cette manière, qui tuent les bactéries (**Batard, 2005 ; Robert, 2013**).

Les macrolides et les lincomycines sont bactériostatiques, ce qui empêche la formation de protéines. Ces antibiotiques adhèrent à la fraction 50S des ribosomes. Le complexe aminoacyl-ARNt est bloqué par cette interaction, ce qui signifie que les acides aminés apportés par son ARNt ne se fixent pas sur le site aminoacyl du ribosome. Donc la synthèse protéique est arrêtée et la bactérie est compromise (**Robert, 2013**).

2.3. Mécanisme sur la synthèse des acides nucléiques

Les acides nucléiques sont la cible des fluoroquinolones. Les topoisomérases ou ADN gyrases ; enzyme qui permet de déplier l'ADN "surenroulé" sont la cible des fluoroquinolones. Ils font partie de la deuxième génération de quinolones, et ils ont une caractéristique distinctive dans leur structure moléculaire : ils contiennent un fluor. Ils ont une bonne activité bactéricide et une excellente biodisponibilité. Les résistances au staphylocoque sont très élevées (**Batard, 2005**).

3. Résistance aux antibiotiques

3.1. La résistance naturelle

La résistance naturelle d'une bactérie est une caractéristique partagée par toutes les souches normales, ce qui entraîne généralement des CMI supérieures à la valeur critique basse de concentration de l'antibiotique testé (**CA/SFM, 2020**). *S. aureus* a une résistance innée aux monobactames tels que l'aztréonam, les quinolones de 1ère génération tels que l'acide nalidixique et les peptides cycliques tels que la polymixine B. Les autres familles peuvent affecter le *S. aureus*. (**Robert, 2013**).

3.2. La résistance acquise

Certaines souches de l'espèce en question présentent une résistance acquise ; causée par une mutation, ou par l'acquisition de matériel génétique étranger (**Gaudy et Buxeraud, 2005**). Bien qu'elle soit moins stable, elle se propage fréquemment de manière significative dans le monde bactérien (comme la production de pénicillinase chez Staphylocoque). Le capital génétique de la bactérie est modifié, ce qui lui permet de

tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (Courvalin, 2008).

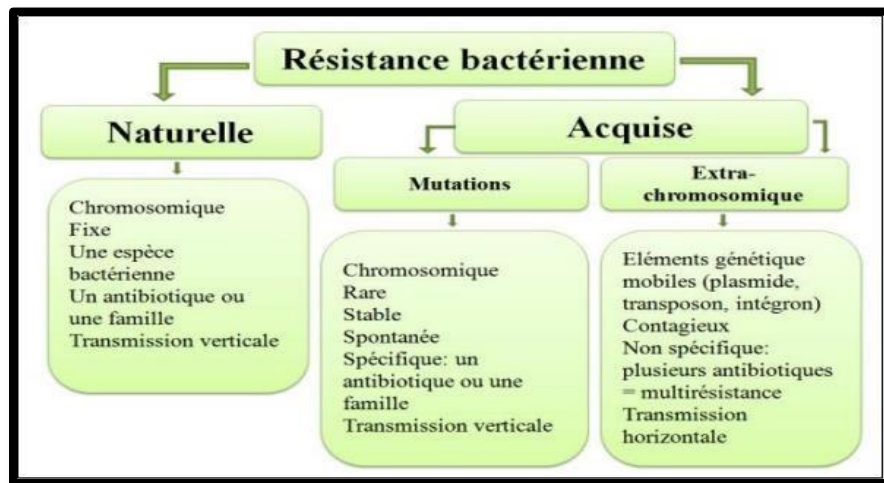


Figure 8: Les types d'antibiorésistance et ses caractéristiques (Azmoun, 2016)

4. Support génétique de la résistance aux antibiotiques

Le *S. aureus* a développé des multi-résistances, y compris les classes d'antistaphylococciques majeurs (Figure 9). La synthèse d'enzymes inactivatrices, la modification de la cible antibiotique et les systèmes d'efflux qui réduisent la concentration d'antibiotique dans la bactérie sont quelques-uns des mécanismes impliqués.

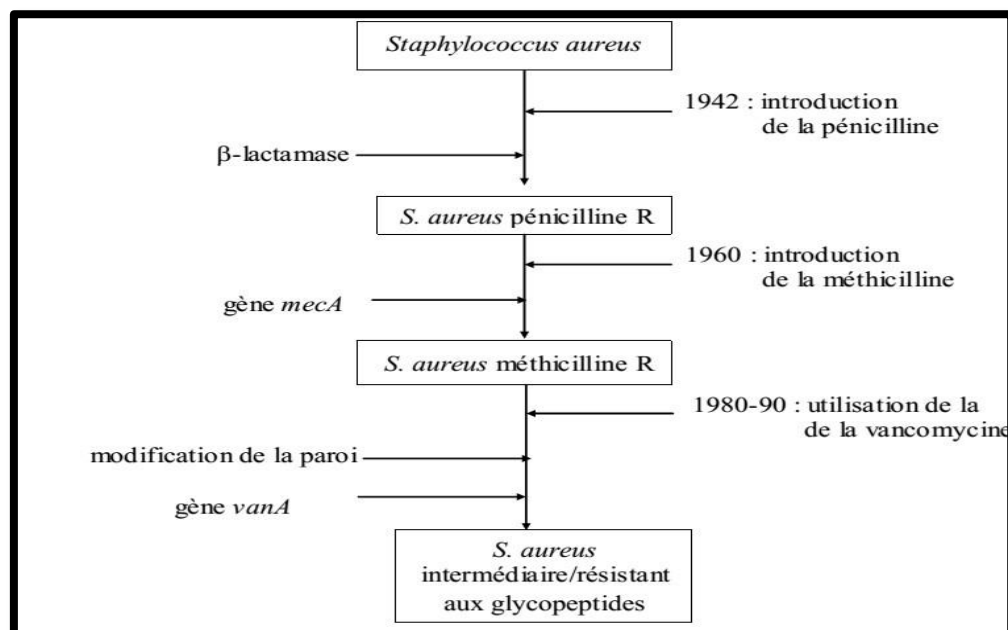


Figure 9 : Acquisition des résistances par *S. aureus* (Hardy et al., 2004)

4.1. Résistance à la pénicilline G

La résistance à la pénicilline implique également une résistance à l'ampicilline, à l'amoxicilline, à la ticarcilline et à la pipéracilline. Cependant, les pénicillines qui sont liées à une substance inhibitrice de pénicillinase comme l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam qui ne sont pas sensibles aux pénicillinases (comme les céphalosporines ou l'imipénème) continuent d'être actives. *S. aureus* présentent une sécrétion de pénicillinases avec un pourcentage allant de 70 à 90 % (**Robert, 2013**).

La synthèse de la β -lactamase ou pénicillinase par certaines bactéries, responsable de la dégradation du cycle β -lactame des pénicillines, est à l'origine du mécanisme de résistance à la pénicilline. Cette enzyme est codée par le gène bla Z porté sur un transposon ou un plasmide. Un système répresseur/antirépresseur (blaR1/blal) contrôle le gène bla Z, donc la production de β -lactamase est assurée par une régulation induite par la présence d'une substance inductible.

4.2. Résistance à l'oxacilline

Dès l'introduction de la méticilline en thérapie en 1960, la résistance aux β -lactamines de cette molécule a été prouvée dans plusieurs cas thérapeutiques (**Hardy et al., 2004**).

Les espèces qui le présentent sont appelées souche résistante à la méticilline, méti R ou SARM. La méticillino-résistance est croisée avec les autres β -lactamines, ce qui signifie que les souches méti R sont résistantes à toutes les β -lactamines, y compris les céphalosporines et aussi l'imipénème. De plus, ces espèces produisent des pénicillinases et sont généralement résistantes aux autres antibiotiques comme les aminosides, les tétracyclines et les macrolides. Par conséquent, ces bactéries sont considérées comme multi résistantes (**Grohs, 2009 ; Stephen et al., 2006**).

4.3. Résistance de *Staphylococcus aureus* à la vancomycine

L'usage de la vancomycine a été augmenté en thérapie, à cause de bactériémies nosocomiales dues aux staphylocoques à coagulase négative comme principale agent positif (**NNIS, 2004**). 75 % des staphylocoques sont résistants à la vancomycine et près de 50 % des *Staphylococcus aureus* dans les unités de soins intensifs aux États-Unis étaient résistants à la vancomycine, selon le "National Nosocomial Infection Surveillance" (NNIS). Les valeurs en

France varient de 30 à 40 % selon les sites. Les premières annonces sur la résistance aux glycopeptides ont été déclarées pour les SCN dès 1979 (**Girard-Blanc et Courvalin, 2005**). Cependant, l'étude des populations est la seule méthode qui permet de faire la distinction entre les trois groupes sensibles, hétéro résistants et résistants. Une de ces études est rapporté par **Maor et al.**, (2007), menée en 2003-2004, où le SARM est isolé chez 264 patients atteints de bactériémies ont été testées à l'aide du test de macrodilution. Le pourcentage de résistance à la vancomycine a été trouvé chez 6 % des patients, MIC de vancomycine étaient de 1 à 4 mg/L, et 12 des 16 isolats ont été signalés à tort comme sensibles à la vancomycine.

4.4. Résistance de *Staphylococcus aureus* aux aminoglycosides

En règle générale, les aminosides été toujours des antibiotiques bactéricides aux Staphylocoques à des concentrations dépendantes. Les aminosides sont principalement administrés en tandem avec les glycopeptides ou les β -lactamines, qui agissent en synergie contre les bactéries (**Bismuth et Leclercq, 2000**). La résistance aux staphylocoques est causée par deux mécanismes d'importance clinique inégale :

-La cible ribosomale modifiée est principalement affectée par la Streptomycine, qui se fixe sur une protéine du ribosome et favorise le choix de mutants résistants. Cependant, les autres aminosides n'ont pas ce mécanisme car ils ont différents sites de liaisons aux ribosomes.

-Le changement de la structure des enzymes est le mécanisme de résistance le plus actif. Les gènes plasmidiques ou transposables sont utilisés pour coder la synthèse de ces enzymes (**Bismuth et Leclercq, 2000**).

4.5. Résistance de *S. aureus* aux macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS)

La croissance des staphylocoques est inhibée par les macrolides (bactériostatiques). Trois mécanismes sont les causes de la résistance aux MLS : le changement des antibiotiques et son efflux actif ainsi le changement du site d'action (**Bismuth et Leclercq, 2000**).

Le mécanisme le plus connu est le changement de la cible, qui crée une résistance croisé entre les familles des macrolides, les lincosamides et les streptogramines B. Donc, une méthylase est produite par les souches résistantes qui

diméthyle un nucléotide à adénine de l'ARN23S de la grande sous-unité du ribosome (**Weisblum, 1995**). Ce changement particulier du ribosome entraîne une diminution de l'affinité entre l'antibiotique et sa cible, probablement en raison de changements dans la conformation de l'ARN ribosomal 23S. Le phénotype MLS B résulte de la résistance croisée entre les trois familles des antibiotiques dont les sites de fixation se croisent.

La variation des antibiotiques est causée par des enzymes uniques dans chaque classe, ce qui entraîne un large spectre de résistance. Chez une souche de *S. aureus* résistante à l'érythromycine par efflux actif, une inactivation enzymatique des macrolides (érythromycine, oléandomycine, clarithromycine, spiramycine, josamycine) mais non de l'azithromycine, peut être due à une estérase (**Wondrack, 1996**).

Les antibiotiques de structure apparentée ne sont touchés que par les mécanismes d'efflux actif. La résistance codée par le gène *msr A* dépendant de l'ATP peut conduire à l'efflux d'érythromycine et d'autres macrolides (**Ross et al., 1990**). Ce gène est responsable aussi d'une protéine d'efflux actif ATP-dépendantes très répandues. Les ABC-transporteurs sont également appelés ABC pour les cassettes attachant l'ATP. Les gènes chromosomiques des staphylocoques codant pour les protéines transmembranaires seraient liés à la protéine *msr A*. Les macrolides sont capables d'induire la résistance. Les autres MLS n'induisent pas (**Ross et al., 1990**).

4.6 Résistance de *S. aureus* à la Rifampicine

Elle empêche l'activation de l'expression du gène en bloquant la production d'ARN messager en se liant à l'ARN polymérase. Tous les mécanismes de résistances connues sont liés aux chromosomes depuis les descriptions initiales en 1973. Les cocci à Gram positif peuvent être mutés à une fréquence de 10^{-7} % et les mutants sont isolés en une seule étape. Pour éviter l'apparition de mutants résistants, il est nécessaire d'utiliser la rifampicine en tandem avec les autres antibiotiques (**Bismuth et Leclercq, 2000**).

4.7. Résistance de *S. aureus* à la Fosfomycine

La formation de la paroi d'une cellule bactérienne est entravée dans une première étape par l'antibiotique de la famille de fosfomycine; un bactéricide à temps dépendant. Deux systèmes de transport actifs permettent à la fosfomycine de pénétrer dans le cytoplasme bactérien : le système des L- α -glycérophosphates et l'autre des hexoses-phosphates. La présence de glucose 6-phosphate active ce dernier système. Les résistances à la fosfomycine sont causées par des mutations qui peuvent affecter le transport de l'antibiotique (gènes *glpT* et *uhp*) et se produisent à une fréquence élevée, ce qui justifie l'utilisation d'un antibiotique en tandem. Il a été rapporté que *S. aureus* et les SCN présentent une résistance plasmidique au fosfomycine (Faith *et al.*, 2020).

5. Caractères moléculaires du SARM

5.1. Gène *mec A*

Le gène *mec A* est le codant de la protéine liant la pénicilline PLP2 responsable de la résistance à la méticilline chez les staphylocoques. Ce gène est localisé dans un élément génétique mobile connu sous le nom de "cassette chromosomique staphylococcique" (Leão *et al.*, 2022). Cet élément a révélé plusieurs gènes supplémentaires dans le génome, cohérents avec les profils de résistance aux antimicrobiens pour d'autres antibiotiques que les β -lactamines, qui constituent SCC *mec* ; il est considéré l'îlot de l'antibio-résistance (Aklilu and Ying Chia, 2020).

5.2. Composition de la cassette staphylococcique chromosomique (SCC *mec*)

La cassette est composée d'un complexe des gènes *ccr*, *mec A* et d'une région J variable ; qui définit les sous-types de cassettes, et une séquence d'insertion IS qui peut être intégrée dans le chromosome (Fig. 10). La structure de la plupart des composants SCC *mec* sont définies de la manière suivante: (orfX) J3-*mec*-J2-*ccr*-J1 (Li *et al.*, 2011).

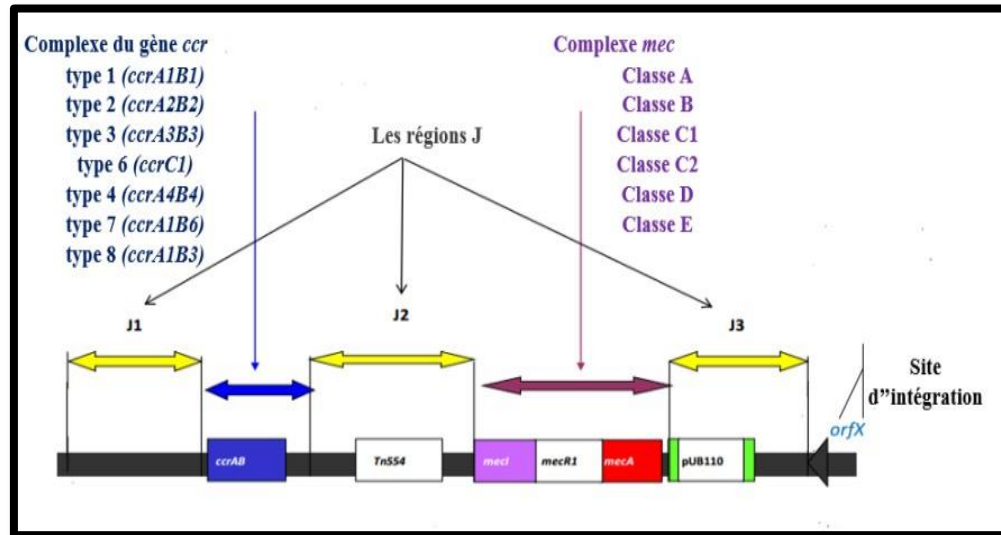


Figure 10: La structure de la cassette SCC mec (Turlej *et al.*, 2011)

5.2.1. Complexe ccr

Il est constitué des orfs entourant le gène(s) ccr. L'insertion ou la répression des séquences dans les cassettes sont catalysées par des recombinases; site spécifiques codées par les gènes ccr (Katayama *et al.*, 2000). À ce jour, le complexe ccr est divisé en deux complexes ; le complexe ccr C et un autre contenant deux gènes ccr adjacents, ccr A et ccr B. Les gènes ccrA et ccrB, qui ont été découverts chez *S. aureus*, ont été subdivisés en quatre et cinq allo types, respectivement, ce qui a donné six catégories de complexes ccr : ccrA1B1, ccrA2B2, ccrA3B3, ccrA4B4, ccrA1B6 et ccrA1B3 (Ito, 2001).

5.2.2. Le gène mec A

Il est le gène responsable de la résistance à toute la famille des β -lactamines à savoir l'oxacilline et la méticilline. Il est incluse dans la cassette chromosomique et entouré par les gènes régulateurs mecR1 et mec I, qui sont responsables de l'activation ou la répression du signal (Louie, 2000).

5.2.3. Zones appelées J

La cassette chromosomique contient en plus du complexe mec A et ccr ; une zone J «joining regions» (J1-J3), également nommées «junkyard regions». Les fonctions dans ces régions sont moins importantes, mais elles ont un intérêt épidémiologique très important car elles peuvent servir de cibles pour les éléments mobiles, portant divers gènes de résistance.

6. Méthodes de détection de la résistance à la méticilline

Le laboratoire en microbiologie utilise plusieurs méthodes pour identifier les SARM. Le processus commence par un dépistage des colonies *S. aureus*, qui sont ensuite testées pour voir si elles sont résistantes à la méticilline. Il est difficile de les identifier correctement à l'aide des méthodes classiques (**Ficca et al., 2006**). Divers facteurs ont un impact sur les techniques de détection de la résistance ; comme certaines conditions dans la culture (température, durée d'incubation, l'ajout du sel ...). Ces facteurs peuvent altérer la culture des SARM (**Felten et al., 2002**).

Pour cette raison, diverses techniques moléculaires ont été développées pour le dépistage du gène *mec A* dans les souches SARM isolées des échantillons cliniques (**Jonas et al., 1999**). Les SARM peuvent être détectés et confirmés à l'aide de ces techniques génotypiques. Plusieurs études ont trouvé une relation significative entre la détection du gène *mec A* par PCR et les tests de sensibilité (**Tenover, 1999**).

6.1. Identification de l'espèce

En cultivant le prélèvement pathologique sur un milieu de culture solide comme la gélose Chapman ou la gélose nutritive ; le micro-organisme est isolé. Une colonie doit également être colorée par la coloration de Gram, puis identifier par des tests de coagulase et de catalase (**Freney, 2007**).

En médecine humaine, le test principal de caractérisation de *S. aureus* est le test de coagulase, qui détermine la capacité de coaguler un plasma. La production de désoxyribonucléase thermostable est un autre test d'identification biochimique important pour le dépistage de *S. aureus* (**Foster, 1996**).

Les techniques immunologiques peuvent également confirmer l'espèce. Ces techniques sont des kits commerciaux comme Staphaurex ou Pastaurex utilisées aux différents laboratoires microbiologiques comme des tests rapides (**Foster, 1996**). Les galeries biochimiques d'identification miniaturisées appelées API STAPH peuvent également être utilisées pour identifier *S. aureus*. Ces techniques sont basées sur des tests enzymatiques et un auxanogramme (**Felten et al., 2002**). Il existe d'autres systèmes automatisés en plus des galeries API.

6.2. Test de céfoxitine

Selon les recommandations du CA-SFM, SARM est détectée par un disque de céfoxitine (30 g) ou de moxalactam (30 g) dans la technique d'antibiogramme. Les souches résistantes ont un diamètre inférieur à 25 mm (céfoxitine) ou 23 mm (moxalactam). Les souches sensibles ont un diamètre de disque qui dépasse 27 mm pour le céfoxitine et 24 mm pour le moxalactam. Pour le diamètre compris entre ces bornes, la PLP2a doit être recherchée soit par un test au latex soit par PCR pour le gène *mec A*.

6.3. Test screening à l'oxacilline

Selon les recommandations du NCCLS, cette méthode est utilisée avec une suspension bactérienne de la souche testée de 0,5 Mc Farland sur une gélose MH additionnée de 4 % de chlorure de sodium et de 6 g/ml de poudre d'oxacilline. Une incubation de 24 à 48 heures est mise en jeu et la poussée d'une seule colonie suffit pour définir une résistance à l'oxacilline (**Wikler, 2007**).

6.4. Détection rapide des SARM

Aujourd'hui, plusieurs techniques ont été développées pour détecter rapidement les SARM. Par conséquent, ces méthodes rapides sont utiles pour accélérer le diagnostic, mais le gain maximal de temps ne dépasse pas 24h à cause de l'étape d'incubation qui est indispensable. Donc, les avantages de ces méthodes restent insuffisants. Plusieurs méthodes de détection rapide ont été développées où la culture primaire (PCR à partir du prélèvement) n'est plus nécessaire et le temps d'incubation est plus court (moins de 5 heures) (**Leão et al., 2022**).

6.5. Spectrométrie de masse (MALDI-TOF)

C'est une technique d'ionisation appelée désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI-TOF) a été développée dans les années 80. Elle permet le dépistage des souches bactériennes par la décomposition de leurs protéines totales (**Tanaka, 1988**).

Parmi les avantages de ce test; c'est en quelques minutes et à partir d'une colonie isolée, le spectromètre permet le diagnostic rapide et peut identifier l'espèce. La base de données est constituée des spectres de références cruciales pour l'identification des

bactéries par MALDI-TOF. Selon certaines études, les SARM et les SASM peuvent être différenciés par cette technique (**Descy et al., 2010**).

6.6. Détection du gène *mec A*

La technique d'amplification de l'ADN **PCR** permet d'obtenir une quantité importante de l'ADN cible. Elle est basée sur l'hybridation de deux amorces qui sont des réactifs de laboratoire obtenus auprès de divers fournisseurs. Elles sont ajoutées aux deux extrémités du fragment de l'ADN chromosomique testés, qui sont parfaitement complémentaires à des régions cibles. Ces amorces contiennent idéalement 20 bases nucléotidiques (**Enright et al., 2000**). La séquence de ces amorces est déterminée en utilisant la séquence ADN cible déposée dans les banques de données informatiques. Pour les SARM, le gène *mec A* permet de les différencier des SASM en utilisant des amorces spécifiques à ce gène. Lorsque le dépistage rapide des SARM est nécessaire, la PCR classique peut donner des résultats au bout de deux heures, pour d'autres PCR en moins d'une heure, et elle peut être effectuée directement à partir de prélèvements cliniques, que fait accélérer le dépistage (**Bernardo et al., 2002**).

6.7. Typage moléculaire

C'est un test clinique indispensable pour la confirmation d'une épidémie. On parle d'épidémiologie moléculaire ; si une méthode est utilisée pour étudier l'épidémiologie des maladies infectieuses (**De Leo et al., 2010**). Les méthodes classiques telles que l'antibiogramme et la lysotypie ont été utilisées pour différencier les souches; mais ils ont montré leurs limites pour les isolats non liés génétiquement qui ont le même antibiogramme (**Udo et al., 2011**). La restriction de l'ADN, PCR ou séquençages sont des méthodes de typage (**Le Loir, 2009**).

6.7.1. Profil de macro restriction par électrophorèse en champs pulsé (pulsotype ou PFGE) : C'est une méthode basée sur une enzyme qui coupe rarement l'ADN génomique. Le *S. aureus* est généralement traité avec une enzyme *SmaI*, qui coupe au niveau du palindrome CCCGGG. Par conséquent, un nombre limité (de 5 à 20) d'une taille allant de 10 à 800 kbs est obtenu que par une électrophorèse en champs pulsé. La PFGE s'est avérée la plus discriminante, elle est considérée comme la méthode performante pour le typage de *S. aureus* (**Tenover et al., 2009**).

6.7.2. Techniques de PCR : Parmi ces techniques utilisant la PCR, on cite:

- **La PCR multiplex**

Il s'agit d'une amplification de différentes séquences données dans un même tube réactionnel. Elle est rapide par rapport à la PCR avec un seul couple d'amorces. Mais, elle est limitée par le nombre de couples d'amorces ; on utilise juste 05 ou 06 couples dans une même réaction. Les génotypes de SCC mec et les gènes codant la PVL peuvent être déterminés par cette méthode (Yao *et al.*, 2010).

- **La PCR en temps réel (Real time PCR)**

C'est la technique qui permet de quantifier les produits obtenus après l'amplification non pas à la fin mais tout au long de la réaction, d'où le nom de "PCR en temps réel". La quantité d'ADN est mesurée à chaque cycle d'amplification à l'aide d'un marqueur fluorescent (Kaltenboeck, 2005). La PCR en temps réel a été utilisée pour différencier *S. aureus*, les SCN, et la résistance à la méticilline (Ruimy, 2008).

- **La Rep PCR (Repetitive Palindromic Extragenic Elements PCR)**

Le polymorphisme qui mesure la distance entre les différents éléments répétés est figuré par les différences de taille des bandes. Elle utilise des amorces spécifiques d'éléments répétés sur le génome entier. Le typage de *S. aureus* a utilisé plusieurs composants répétés : RepMP3, interIS256 et Tn916. Il s'agit d'une méthode rapide discriminante (Deplano *et al.*, 2000).

- **La RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA)**

Elle est nommée aussi AP-PCR ; c'est une amplification aléatoire de fragments d'ADN soit par l'utilisation d'une température d'hybridation non-stringente (une basse température) ou bien l'insertion de petites amorces de 10 à 12 nucléotides. Cette technique est rapide et moins coûteuse, néanmoins, certains problèmes peuvent la rencontrer ; tels que le lot de la Taq polymérase, la qualité du thermocycler et la pureté de l'ADN extrait, peuvent modifier l'amplification d'ADN donnant des faux résultats (Deplano *et al.*, 2000).

6.7.3. Le séquençage

- **Multilocus sequence typing (MLST)**

L'ensemble de plusieurs gènes structuraux (house keeping) est combinée dans cette méthode dans une approche identique au dépistage des isoenzymes (**Enright, 1999**). Pour *S. aureus*, les sept gènes *arc C*, *aro E*, *glp F*, *gm k*, *pta*, *tpi* et *yqiL* ont été amplifiés et séquencés à 450-500 bps. Le profil allélique de ces sept loci peut être utilisé pour définir chaque isolat de cette manière. Ce profil allélique est désigné par le terme séquence type (ST). Cette méthode a une excellente reproductibilité et un pouvoir discriminant très élevé. Des comparaisons rapides entre les souches peuvent être effectuées à l'aide d'une banque génomique qui contient les différents types de séquence de souches. L'un des inconvénients de MLST est évidemment son coût élevé (**Freney, 2007**).

- **Typage du gène spa**

Ce typage permet de déterminer une partie du gène codant une région polymorphe X qui exprime la protéine A de *S. aureus* (spa) (**Maryam Shahid et al., 2023**). Elle est formée de 24 bp avec plusieurs répétitions, qui peuvent être la cause des différentes mutations. L'usage d'amorces dans les deux extrémités de la région variable du gène spa permet l'analyse de cette partie du gène. Par conséquent, chaque unité répétitive distincte reçoit une valeur ; un type, également connu sous le nom de profil spa, est défini par une séquence qui identifie chaque répétition dans la région X. Pour faciliter l'identification standardisée de ces profils, un logiciel informatique et une base de données internationale ont été créés (<http://www.ridom.de/staphtype/>) (**Goran et al., 2020**).

6.7.4. Puce à ADN

Elle est formée d'une maille de micro-surfaces attachées sur un support. Chacune a une position précise avec plusieurs sondes oligonucléotidiques qui sont greffées sur chacune d'entre elles, dont les séquences correspondent à un gène recherché (**Delpech, 2000**). Certaines puces à ADN sont adaptées au typage par MLST pour l'identification de *S. aureus*, et peuvent recevoir plus de 465 sondes codant pour différentes protéines ; de

plusieurs fonctions tels que : la résistance aux antibiotiques, facteurs de virulence et des facteurs de régulation de son expression. L'avantage de cette technique est plus discriminante que l'analyse pour différents marqueurs, est qu'elle peut fournir des informations sur les gènes qui régulent la virulence et la pathogénicité de cette bactérie (Trad *et al.*, 2004). L'avantage de ces puces ADN est qu'elles offrent aussi un typage définitif, mais l'analyse de ces puces ADN nécessite un matériel très coûteux.

PARTIE

EXPERIMENTALE





Chapitre IV

Matériels et méthodes



1. L'objectif

Nous avons établi les objectifs suivants pour étudier la fréquence des SARM responsables des infections dans les milieux hospitaliers de la wilaya de Tébessa :

- L'isolement et l'identification des SARM d'origine hospitaliers.
- Etudier les profils de résistance de différentes souches de *S. aureus* isolées de différents prélèvements.
- Caractérisation moléculaire de quelques souches SARM qui avaient été identifiées auparavant par les méthodes phénétiques pour rechercher le gène de résistance à la pénicilline par PCR.

2. Cadre d'étude

Une étude de 1200 prélèvements hospitaliers provenant de divers hôpitaux et établissements hospitaliers dans la wilaya de Tébessa est présentée dans ce travail (**Tab.5**). Au cours de trois ans, de janvier 2018 à mars 2020, 250 souches ont été prélevées des échantillons cliniques responsables d'infections hospitalières.

Les lieux de cette étude sont les hôpitaux de soins et d'admission des patients. Ils se composent des cinq hôpitaux suivants :

-Le premier hôpital **Bouguerra Boulares** (Bekkaria) dispose de 252 lits pour la médecine interne, les maladies infectieuses, la dermatologie, la pneumo-phtysiologie, la cardiologie, l'oncologie et l'hématologie.

-La clinique **Alia Saleh** offre des services de chirurgie, d'orthopédie, de néphrologie, de chirurgie maxillo-faciale, de bloc opératoire, de post-opératoire, de médecine légale et d'urgences médicales.

-Le service de gynécologie-obstétrique, de néonatalogie et de pédiatrie sont disponibles à l'hôpital **Khaldi AbdelAziz**.

-Le quatrième hôpital **Mohamed Chbouki** (Cheria) dispose de 150 lits pour la médecine interne (H et F), la réanimation, l'orthopédie, la gynécologie, la maternité, l'hémodialyse, la pédiatrie, la chirurgie (H et F) et la post-opératoire.

-L'hôpital **Tijani Haddam** à Bir el Ater dispose de 120 lits pour la médecine interne (H et F), la réanimation, l'orthopédie, la gynécologie, la maternité, l'hémodialyse, la pédiatrie et la chirurgie (H et F).

Les *S. aureus* ont été isolées et identifiées à partir de différents produits pathologiques (urine, pus et muqueuse vaginale) effectués selon la technique appropriée pour chaque prélèvement.

Le laboratoire de biochimie et de microbiologie appliquée à l'université Chahid Cheikh Larbi Tebessi de Tébessa et le laboratoire de biologie moléculaire (Gène Life) à Sidi Bel Abbas ont effectué les diverses manipulations microbiologiques et moléculaires.

Tableau 05 : Le nombre et la répartition des prélèvements collectés.

Nombre de Prélèvements	Etablissement hospitalier	Région
231	Hôpital Mohamed Chbouki	Chéria
233	Hôpital Bouguerra Boulares	Bekkaria
249	Hôpital Tijani Haddam	Bir El Ater
202	Maternité Khaldi A/Aziz	Tébessa
285	Clinique Alia Saleh	Tébessa
1200 Echantillons		

3. Procédure de l'étude

3.1 Critères de choix des échantillons

- Tous les patients hospitalisés ayant des prélèvements d'ECBU, de pus ou un prélèvement vaginal avaient une culture positive au *S. aureus* ont été inclus dans l'étude.
- Des prélèvements présentent des colonies prédéfinies de *S. aureus* après culture dans divers milieux sélectifs (Chapman, gélose au sang) ont été considérés comme positifs.
- Les boîtes de milieux sélectifs contenant *S. aureus* sont envoyées au laboratoire de microbiologie de la faculté de biologie pour être identifiées sur la base de caractéristiques morpho-physio-biochimiques, pour étudier la résistance à l'oxacilline et pour étudier la résistance aux antibiotiques à usage thérapeutique.
- Les boîtes ont été étiquetées pour identifier chaque patient infecté par *S. aureus*. (Hôpital, service, numéro de lit, sexe, âge, prise de β -lactamines, type de prélèvement, date d'admission et date de prélèvement).

4. Etude bactériologique

4.1. Prélèvements

Ils ont été récupérés en respectant éventuellement des mesures d'hygiène pour éviter tout type de contamination, pour chaque produit pathologique ; on distingue:

- 4.1.1. Les urines :** elles doivent être récupérées le matin, après restriction hydrique la veille. Après désinfection soigneuse de la région génitale, le patient élimine le premier jet, puis recueille quelques millilitres d'urines dans un pot stérile ou un écouvillon stérile. (Sedrati, 2014).
- 4.1.2. Le pus :** c'est un liquide visqueux issue des infections superficielles comme les furoncles ou des plaies surinfectées... ou bien des suppurations profondes exemple d'ostéomyélite ou d'origine digestive. Le prélèvement de pus est réalisé par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction pour les infections profondes en utilisant une seringue jetable (**Fig. 11**), dans des conditions rigoureuse pour éviter tout type de contamination.



Figure 11: prélèvement de pus

- 4.1.3. Le prélèvement vaginal :** Le prélèvement s'effectue par écouvillonnage (**Fig. 12**) sur l'ensemble de la paroi du tiers vaginal inférieur. Il ne peut être fait qu'au laboratoire ou en clinique. Il est fait dans la période où la femme n'est pas dans le cycle menstruelle et avant antibiothérapie ou bien après 10 jours de la prise des antibiotiques. La pose d'un spéculum n'est pas nécessaire.



Figure 12: tube E swab pour prélèvement vaginal

4.2. Analyses microbiologiques réalisés sur les prélèvements

4.2.1. Isolement de *S. aureus* responsables des infections

- **ECBU** : après prélèvement, l'échantillon des urines est dilué, ensuite ensemencer selon la méthode de Veron sur le milieu de culture Chapman et incubé à 37°C entre 18 à 24 heures. Une culture positive est suivie de tests d'identification et d'antibiogramme.
- **ECB du pus** : L'examen cyto bactériologique du pus est effectué par des analyses bactériologiques quantitative et qualitative pour affirmer la présence d'une infection et contribuer à son diagnostic médical.
- **ECB du prélèvement vaginal** : L'examen cyto bactériologique vaginal est effectué par une étude cytologique préliminaire à l'aide d'un microscope ; qui permet l'observation des différentes formes de cellules à savoir : les érythrocytes, leucocytes qui peuvent être l'orientation pour dépister une infection vaginale. Une étude bactériologique pour la recherche des bactéries pathogènes en ensemencant par écouvillonnage sur les milieux de culture adéquats. Ces milieux seront incubés à 37 °C pendant 24 heures pour la recherche des bactéries. Une fois poussée, on passe à l'étape d'isolement et d'identification de ces bactéries par les méthodes conventionnelles.

4.2.2. Identification des souches

Les souches isolées ont été préalablement identifiées par des méthodes microbiologiques basées sur des caractères morpho-physio-biochimiques. Tout résultat obtenu dans chaque étape permet une orientation pour le dépistage de l'isolat dans l'étape suivante (**Fig.16**) (**Cosgrove *et al.*, 2003**).

✓ **Examens macroscopiques** : pour l'aspect macroscopique des *S. aureus* sur son milieu sélectif qui est le milieu Chapman ; les colonies doivent être bombées visqueuses avec une couleur jaunâtre et elles fermentent le mannitol (**Cosgrove et al., 2003**).

✓ **Examens microscopiques** : la coloration de Gram des colonies isolées peut trancher la forme de la paroi et le regroupement des colonies.

a. Principe : La coloration de Gram différencie les bactéries selon leur forme, leur regroupement et leur affinité pour les différents colorants. Elle permet de distinguer deux groupes bactériens par rapport à la structure de peptidoglycanes de la paroi:

- Les bactéries à **Gram positif** riches en peptidoglycanes et pauvres en lipides.
- Les bactéries à **Gram négatif** pauvres en peptidoglycanes et riches en lipides

(**Camille, 2007**).

b. Technique : On réalise un frottis sur une lame, en étalant une colonie en couche mince avec une à deux gouttes d'eau physiologique. On met l'échantillon au centre de la lame en faisant des mouvements de rotations sur la flamme du bec Benzène jusqu'à séchage de la lame.

- La lame est prolongée pendant 1 minute dans du **crystal violet** (coloration basique), ensuite, on étale le **lugol** (solution iodo-ioduré) et on laisse agir pendant 30 s. on procède à une décoloration à l'**alcool** en le versant sur la lame inclinée pendant presque 10 secondes.
- Enfin, la contre coloration s'effectue avec de la **Fuchsine** pendant 1 minute.
- On sèche la lame puis on ajoute une goutte de l'huile à immersion pour une observation par microscope avec l'objectif × 100.

c. Lecture: les colonies «Gram-positif » sont colorées en violet et les « Gram-négatif» apparaissent en rose (**Camille, 2007**).

✓ **Recherche de la catalase**

a. Principe: C'est une enzyme produite par les bactéries qui ont un métabolisme oxydatif (respiratoire) comme une enzyme de détoxification des résidus métaboliques toxiques de l'oxygène. La catalase a la propriété de dégrader le peroxyde d'hydrogène avec dégagement de l'hydrogène sous forme gazeux (**Madian et al., 2007**).

- b. Technique :** on prélève une colonie d'une culture bactérienne jeune tirée d'un milieu solide et on la dépose sur une lame qui contient une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) (**Fig.13**).
- c. Lecture :** Le dégagement des bulles d'air d'O₂ confirme la présence de catalase. (**David et al., 2010**)

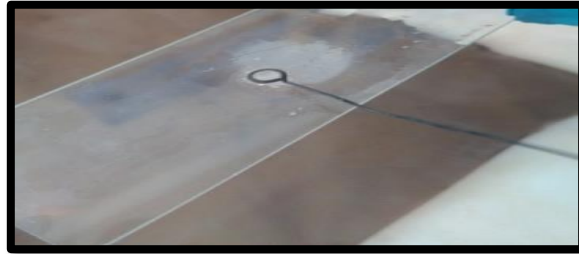


Figure 13: Test de Catalase

✓ **Recherche de la coagulase**

a. Principe : *S. aureus* possède un critère de faire coaguler un plasma recueilli sur un anticoagulant. La coagulation sera faite grâce à une enzyme appelé : la staphylocoagulase ou coagulase. Elle se lie avec la prothrombine pour former un caillot sanguin en absence de calcium.

Ce caractère est un test important pour l'identification de l'espèce *aureus* mais certaines souches peuvent être dépourvues de la coagulase (10 à 15 % en milieu hospitalier), cette perte est reliée à un traitement d'antibiotique (**Barrow et Feltham, 2003**).

b. Technique :

- Réaliser une suspension bactérienne.
- Mettre quatre gouttes de suspension bactérienne bien agité et quatre gouttes de plasma humain oxalatés dans un tube à hémolyse.
- Mettre la préparation dans le bain marie entre deux à 24h à une température de 37°C (**Fig. 14**).

d. Lecture: Une coagulation est observée par une prise d'un caillot (**David et al., 2010**).



Figure 14: Test de Coagulase

✓ **Galerie API Staph**

- a. **Principe:** une variété des tests biochimiques et enzymatiques miniaturées qui ressemblent à la galerie classique et fournissent des résultats fiables. La galerie API Staph., qui contient 20 micro-tubes de substrats déshydratés (**Fig. 15**), permet de distinguer l'espèce *S. aureus* des autres espèces de *Staphylococcus* (**David et al., 2010**)
- b. **Technique:** chaque boîte d'incubation contient un fond et un couvercle, en première étape, verser environ 5 millilitres d'eau distillée dans les alvéoles pour rendre l'atmosphère humide. Un inoculum bactérien d'opacité de 0,5 Mc Farland est préparé avec une ampoule d'API Staph Medium (suspension fourni dans le kit) à partir d'une culture pure jeune de 18 heures sur gélose Chapman. Remplir la suspension bactérienne préparée dans les micro-tubes de la galerie à l'aide d'une pipette pasteur et d'une tétine. Pour les tests Urée et ADH, il est nécessaire de créer une anaérobiose en remplissant les deux cupules d'huile de paraffine et à la fin, on met la galerie en incubation à 37 °C pendant 24 heures.
- c. **Lecture:** après incubation, la lecture se fait conformément au tableau de lecture ou à l'aide d'un logiciel sur internet. L'identification est obtenue à partir d'un profil numérique qui nous aide aussi pour avoir les biotypes des espèces aureus en plus de l'identification de l'espèce (**Murray, 2003**).



Figure 15 : API STAPH

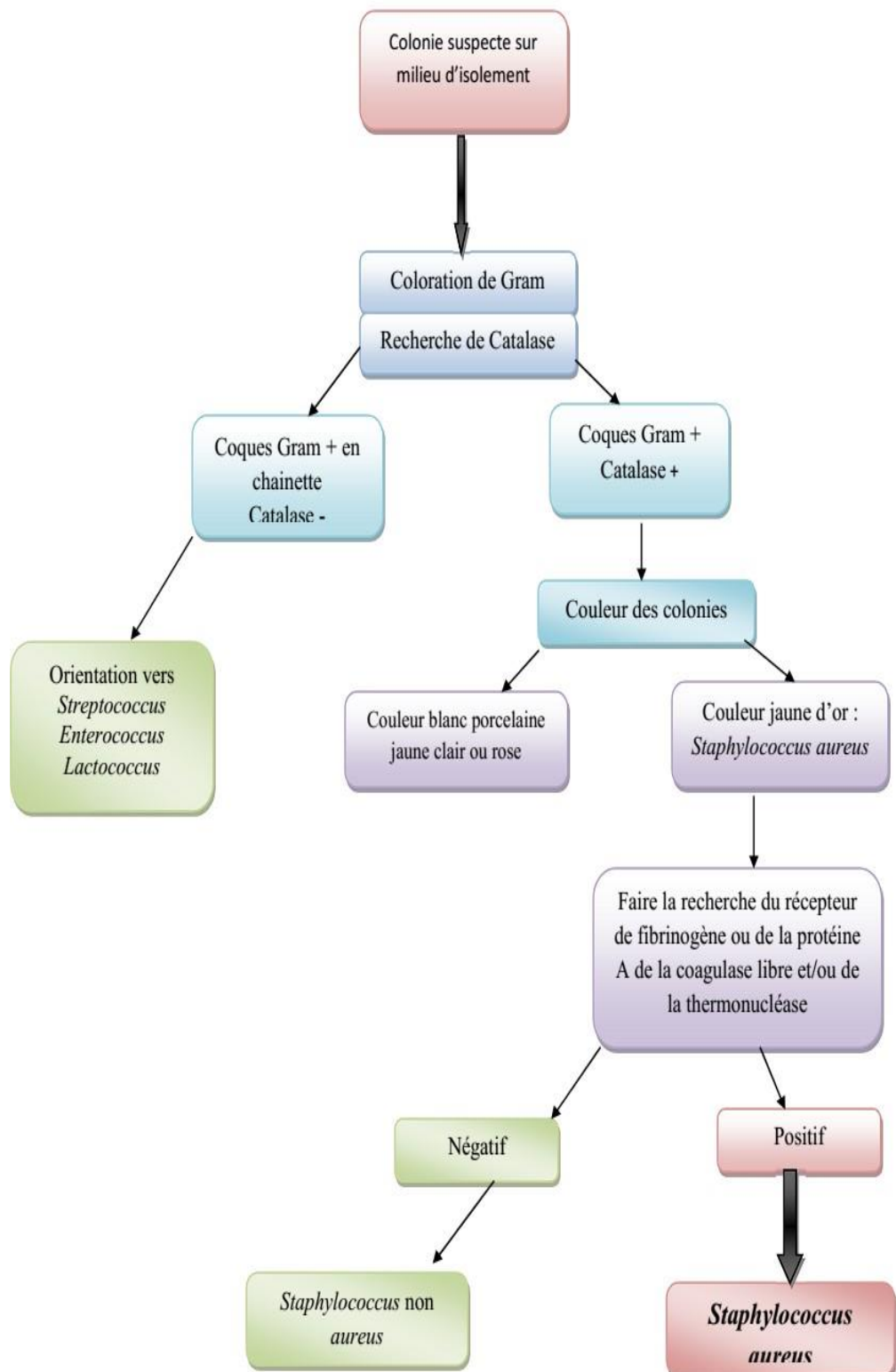


Figure 16 : Organigramme de l'identification de *Staphylococcus aureus* (Leyral *et al.*, 2003)

5. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

a. principe : pour tester la sensibilité du *S. aureus* aux antibiotiques, on a utilisé la technique de diffusion sur gélose MH décrite par CA-SFM (2020). On a testé 11 antibiotiques connus et utilisés souvent par les cliniciens dans les hôpitaux pour être actifs sur cette bactérie (Brun, 2000). Ils appartiennent à diverses familles, comme indiqué ci-dessous (Tab. 6):

Tableau 6: Les antibiotiques testés pour *S. aureus* selon CA-SFM 2020.

Antibiotique	Charge de disque (µg)	Diamètre critique(mm)	
		S* ≥	RI**<
Erythromycine	15	22	19
Oxacilline	05	20	20
Céfoxitine	30	27	25
Pristinamycine	15	22	19
Amikacine	30	18	18
Chloramphénicol	30	18	18
Gentamicine	15	20	20
Vancomycine	30	17	17
Tétracycline	30	23	21
Triméthoprime	05	14	14
Oflaxacine	05	22	22

S*: souche Sensible. RI**: souche Résistante ou intermédiaire

b. Technique

- une suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture pure de 18 h. Quelques colonies isolées et bien identiques sont prise par une anse de platine, puis ajoutés dans 5 ml d'eau physiologique (0,9 %). La suspension bactérienne est uniformément homogène.

- L'ensemencement sur milieu MH ne doit pas dépassé 15 minutes après la préparation de la suspension bactérienne.

- Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, pressé fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger complètement. Ensuite, il est frotté en stries serrées de haut en bas sur toute la surface gélosée sèche.

- L'opération est répétée plusieurs fois en s'assurant que la suspension est étalée sur toute la surface de la gélose MH dans la boîte de pétri.

- Chaque fois qu'une boîte de Pétri est plantée, l'écouvillon est rechargé.

- **Application des disques d'antibiotiques** : dans chaque boîte de pétri, on peut appliquer 06 disques d'antibiotiques espacés de 24 mm, centre à centre. À l'aide d'une pince stérile, les disques d'antibiotiques sont appliqués. Ensuite, les boîtes sont incubées immédiatement pendant 18 h. à 37°C (**Pantosti et al., 2007**).

c. Lecture: mesurer le diamètre des zones d'inhibition avec un pied à coulisse. Les zones sont comparés aux valeurs standards dans le tableau de lecture, puis la bactérie est classée en sensible ou résistante (**Fig. 17**) (**Pantosti et al., 2007**).

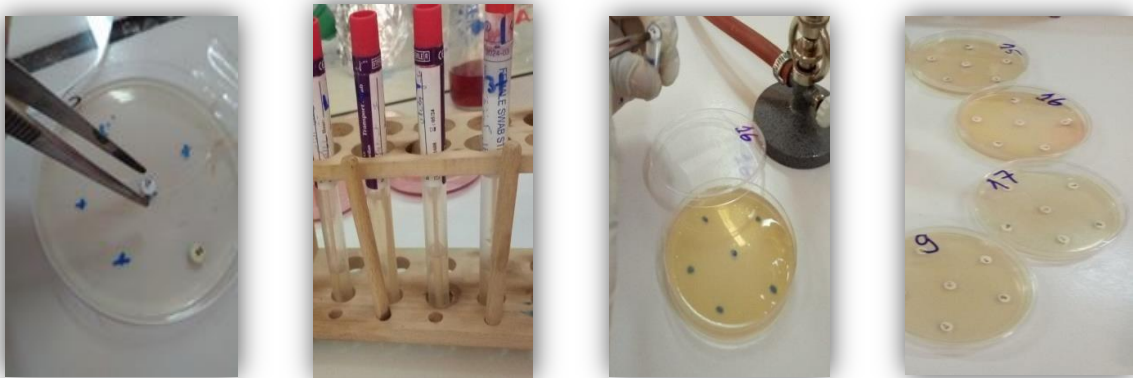


Figure17 : Technique d'antibiogramme

6. Test de Screening à l'oxacilline

a. Principe : c'est un test spécifique au SARM (**Moulin, 2002**).

b. Technique :

- Dans 10 ml d'eau distillée stérile, on a fait dissoudre 6 mg d'oxacilline sous forme injectable (1gr), puis on a fait une dilution décimale au 1/10 dans l'eau distillée.
- On répartie la solution obtenue en 2 ml par tube. Ces tubes peuvent être conservées à -20°C pendant une semaine.
- Dans une boîte de boîte de pétri, 2 ml de cette dilution est ajouté sur 18 ml de gélose MH, ensuite on a mélangé le tous par des mouvements rotatoires.
- La boîte de Pétri est divisée en quatre quadrants après solidification: le premier quadrant est ensemencé par la souche à tester, le deuxième quadrant par les souches de références: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 souche sensible à l'oxacilline et le

troisième quadrant par *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 souche résistante à l'oxacilline. Et enfin pour le quatrième cadrant reste vide.

- Incubation pendant 24 heures à 37°C.

c. Lecture : une seule colonie suffit dans le quadrant de la souche à tester pour confirmer une résistance à l'oxacilline, ce qui implique une résistance à tous les β -lactamines (**Fig. 18**).

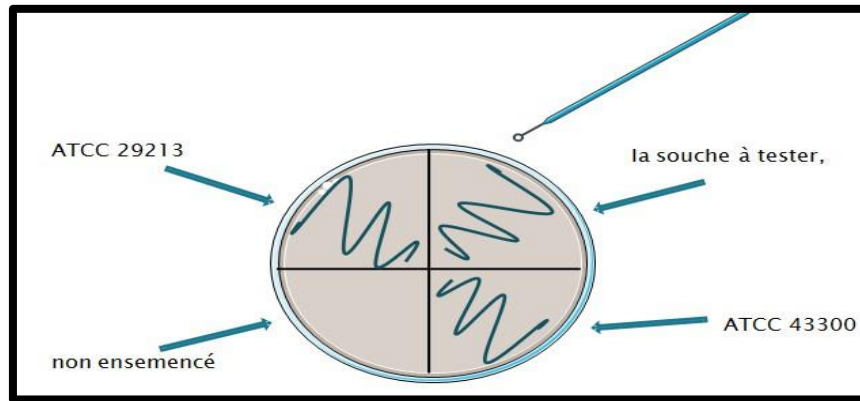


Figure 18 : Test de Screening à l'oxacilline

7. Détection de β -lactamase

a. Principe : ce test est réalisé pour chaque souche qui possède un diamètre d'inhibition à la pénicilline de 29 mm sur milieu MH, à partir d'une culture jeune de la souche testée (**Marmonier, 1985**).

b. Technique :

- On étale une souche de *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la pénicilline considérée comme témoin négatif sur la totalité de la gélose MH, puis un disque de péni-G est déposé au centre de la boîte ensemencé.
- Cette même souche est une autre fois ensemencée en strie radiale serrée sur cette même boîte du centre vers la périphérie. De la même façon, la souche *S. aureus* ATCC 43300 résistante à la pénicilline considérée comme témoin positif et la souche à tester sont ensemencées.
- A la fin, la boîte est incubée 18 heures à 37°C.

- c. **Lecture** : La production de la β -lactamase par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact du disque de pénicilline.

8. Le dépistage du phénotype méticillino-résistant

- a. **Principe** : ce test est fait soit avec un disque d'oxacilline (5 μ g) avec un inoculum d'une suspension bactérienne dense ensemencée sur gélose MH normale avec une incubation à 30°C ou sur MH hyper salé et l'incubation sera à 37°C pendant 24h. ou bien avec un disque de céfoxitine (10 μ g) avec un inoculum de 10⁶UFC/ml, sur milieu MH pendant 18-24H à 35°C (**Felten et Casin, 2003**).

b. Technique :

- un inoculum est préparé à partir d'une culture bactérienne jeune de 18h. Quelques colonies bien isolées sont déchargées dans une ampoule d'eau physiologique stérile à 0,9% de 5 ml et bien homogénéisées.

- on trempant un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne déjà préparée, et on fait des stries serrées sur la totalité de la surface du milieu MH.

- On dépose soit un disque d'oxacilline de (5 μ g) ou bien un disque de céfoxitine de (10 μ g) au centre de la boîte ensemencée avec une pince flambée.

- On incube pendant 18 h. à 35- 37°C.

- c. **Lecture** : si le diamètre d'inhibition est inférieur à 22 mm pour le disque de céfoxitine ou inférieur à 20 mm pour le disque d'oxacilline, on considère la souche testée résistante à la méticilline.

9. Dépistage du gène de virulence mec A

- a. **Principe** : En ciblant la recherche du gène mec A, une extraction de l'ADN a été faite préalablement sur les souches SARM identifiés phénotypiquement. Avant de passer au traitement par PCR, l'ADNg WizPrep™ Mini kit d'extraction de l'ADN a été utilisé pour extraire l'ADN bactérien et la spectrophotométrie NanoDrop (NanoDrop2000-Thermoscientific™) a été utilisée pour confirmer et déterminée sa quantité extraite (**Ugwu et al., 2022**).

La PCR a été ensuite réalisée dans un thermocycleur avec les cycles de réaction consistant en une dénaturation initiale par chauffage pour séparation des deux brins de l'ADN, puis une hybridation des amorces préalablement ajoutés dans le milieu réactionnel pour les extrémités recherchés et en fin une élongation ou étape d'extension par l'action enzymatique d'une ADN polymérase (Jonas, 2002).

9.1. Extraction d'ADN

- Elle est réalisée sur 05 souches SARM préalablement confirmés par les différentes techniques morpho-physio-biochimiques, isolées sur milieu sélectif Chapman.
- Préparez une suspension jeune de 24 h des souches à tester.
- Prenez quelques colonies de cette suspension et les mettez dans un millilitre d'eau ultra pure.
- Centrifugez à froid à 4C° avec une vitesse maximale (10000 g) pendant 10 min.
- récupérez juste le culot.
- Rajoutez 300 µl d'eau ultra pure et faire chauffez à une température de 100°C pendant 10 min.
- Mettez les extraits dans la glace pour réaliser un choc thermique.
- Centrifugez à vitesse maximale pendant 10 min.
- Récupérez du surnageant l'extrait d'ADN (Ugwu *et al.*, 2022).

9.2. Quantification de l'extrait d'ADN

La méthode de quantification utilisée est la spectrophotométrie qui mesure l'absorbance à 260 nm. Parallèlement on détermine leur pureté en mesurant l'absorbance à 280 nm. Les extraits d'ADN obtenus ont été quantifiés en utilisant une NanoDrop (NanoDrop2000-Thermoscientific™) Spectrophotomètre. C'est une mesure sur une large gamme de longueurs d'onde pour l'analyse des spectres dans le visible et l'UV afin d'identifier les contaminants et calculer les concentrations pour des résultats exactes.

9.3. Amplification du gène de résistance

a. principe :

La méthode se base sur une amplification enzymatique d'un morceau d'ADN (polymerase chain reaction). La PCR est une succession de trois étapes : dénaturation thermique de l'ADN double brin à environ 94°C, hybridation d'amorce à 55°C et une élongation à 72°C. Une série de 34 cycles consécutifs conduit à l'augmentation du nombre de copies du fragment répliqué, chaque produit de la réaction d'élongation servant comme matrice pour une réaction ultérieure (Ugwu *et al.*, 2022).

b. Technique :

Les amorces suivantes ont été utilisées pour traiter l'ADN extrait pour l'amplification :

-L'amorce directe mec A: P1 : 5'-GTA GAA ATG ACT GAA CGT CCG ATAA-3'.

-L'amorces inversée: P2 : 5'-CCA ATT CCA CAT TGT TTC GGT CTAA-3'

Avec une taille de produit de 732 pb. 20ul de mélange réactionnel pour l'amplification du gène mec A dans *S. aureus* contenant : 07uL d'eau, 01uL d'amorce directe, 01uL d'amorce inversée, 01uL de solution d'ADN et 10 uL de pré mélange de PCR qui contient 01 uL d'ADN matrice a été utilisé.

L'ADN a été amplifié en utilisant Swift TM Termocycleur (ESCO Technologies Inc. France) comme suit: une dénaturation à 94 °C pendant 01 min, suivi par Une étape d'hybridation des oligonucléotides à 55 °C pendant une 01 minute ; une étape d'élongation à 72 °C pendant 45 secondes ; le dernier cycle a été réalisé à 72 °C pendant 05 minutes (Tab. 8) (Jonas, 2002).

Tableau 07 : Le milieu réactionnel pour l'amplification des souches

Produit	Volume pour un tube (µL)	Volume pour 05 tubes (µL)
Eau	27.8	139
TP10X taq	5	25
MgCl ₂	1.5	7.5
DxTP	8	40
Oligo sens EA1	2.5	12.5
Oligo anti-sens EA2	2.5	12.5
Taq polymérase	0.7	3.5
Total	48	240

On répartit dans chaque tube un volume de 48 µL du mélange réactionnel, ensuite on ajoute 2 µL pour chaque échantillon d'ADN à tester dans les 05 tubes. On a introduit les tubes dans le thermocycleur. La taille du fragment à amplifier par le couple d'amorce est de 732 pb. A la fin le nombre de cycle est réglé à 34 cycles (**Tableau 7**).

Le gène *mec A* a été dépisté par PCR chez 05 souches de *S. aureus*. Un mix pour 09 tubes (05 souches de *S. aureus* avec quatre souches de référence) a été préparé comme mentionner dans le tableau (Tableau 09).

Tableau 08 : Etape de l'amplification d'un cycle

Etape	Température (°C)	Temps (secondes)
Dénaturation	94	60
Hybridation	55	60
Elongation	72	45

Tableau 09 : préparation du mix pour 09 tubes

Produit	Volme pour un tube (µL)	Volume pour 09 tubes (µL)	Concentration finale
H ₂ O milliQ	26.75	240.75	-
TP10X	5	45	1x
Dxtp	8	72	0.4mM
Amorce EA1s	2.5	22.5	0.5Mm
Amorce EA2as	2.5	22.5	0.5Mm
<i>DreamTaq</i> <i>Fermentas</i>	0.25	2.25	1.25U

9.4. Différenciation du produit de PCR

a. principe :

L'électrophorèse sur gel est une méthode de séparation des macromolécules en fonction de leur charge électrique et leur poids moléculaire. Elle est utilisée pour la séparation, l'identification et la visualisation des morceaux d'ADN. Cette technique se repose sur deux phases ; une solide constitué de gel d'agarose qui est un polymère saccharidique possédant la propriété de séparer les grandes molécules de PM supérieure à 200 kDa. Et une phase mobile constituée d'un tampon basique. Les molécules d'ADN sont chargées négativement, donc quand elles soumissent à un champ électrique, elles migrent vers l'anode (le pole positive). La distance de migration par rapport à la ligne de dépôt est caractéristique de la taille et de la charge de la molécule séparée.

b. Technique :

- On Prépare une quantité de tampon TBE (1X) pour remplir le dispositif d'électrophorèse.
- On prépare le gel d'agarose vendu sous forme de poudre : donc on fait dissoudre 1,5 g d'agarose dans 100 ml de tampon TBE 1X.
- On fait bouillir la solution préparée sur un agitateur magnétique chauffant jusqu'à dissolution complète de l'agarose pour éviter la formation de bulles dans le gel.
- Laisant le gel se refroidir puis on ajoute directement un volume de 2,5 µl d'un révélateur fluorescent.
- On mélangeant la solution convenablement.
- On prépare le moule avec un peigne muni de plusieurs dents pour faire des puits pour déposer les échantillons d'ADN.
- Laisser refroidir, 15 à 20 minutes à température ambiante en couvrant le support avec du papier aluminium contre la lumière.
- Lorsque le gel est solidifié, on retire le peigne et plaçant le gel dans la cuve d'électrophorèse. Les puits devant être du côté de la cathode (pole négative).
- On ajoute le tampon TBE (1X) comme phase liquide dans la cuve d'électrophorèse pour recouvrir le gel d'une épaisseur allant de 2 à 5 mm environ.
- On ajoute 1µl du bleu de bromophenol mélangé avec 5 µl de chaque échantillon. Le bleu de bromophénol est un indicateur de couleur, simplifiant ainsi le processus de chargement et augmente la densité de l'échantillon dans le puits.
- On dépose 6 µl d'ADN dans chaque puits avec une micropipette, en évitant que le puits ne déborde. Veiller à ne pas perforer le fond des puits.
- On fait brancher la cuve de l'électrophorèse au générateur.
- Une fois l'électrophorèse est terminée (60 minutes), on coupe le courant, et retirant le gel de la cuve.
- On déposer le gel sur un trans-illuminateur de type Gel Doc™ XR+ BIO-RAD™ pour la visualisation.

10. Analyses statistiques

Les données de cette étude ont été saisies et codées sur Excel, à partir des codes des patients hospitalisés, leurs caractères épidémiologiques (sexe, âge, usage des antibiotiques, types de prélèvements recueillis). Les résultats d'identifications ont été analysés par une comparaison des souches identifiées sur des tableaux d'identifications sur API-web.

L'analyse des données a été réalisée par SPSS 2020 qui est un logiciel de calcul statistique. Le seuil de signification statistique à 5% est considérée significative quand la valeur $p < 0,05$. Les résultats sont mentionnés sous forme de moyennes et de pourcentages. La taille de l'échantillon proposée et étudiées statistiquement était de 1200 prélèvements avec 250 souches de *S. aureus*.



Chapitre V

Résultats et Discussion



1. Répartition des prélèvements

Durant trois années, parmi les 1200 prélèvements qu'on a effectués, on a pu isoler **250 *Staphylococcus aureus***, dont le pourcentage est de 20,83%. Les prélèvements positifs sont généralement de nature pus (n=197, 78.80%), des urines (n=45, 18%) et des prélèvements vaginaux (n=8, 3.20%) (**Tableau 10**)

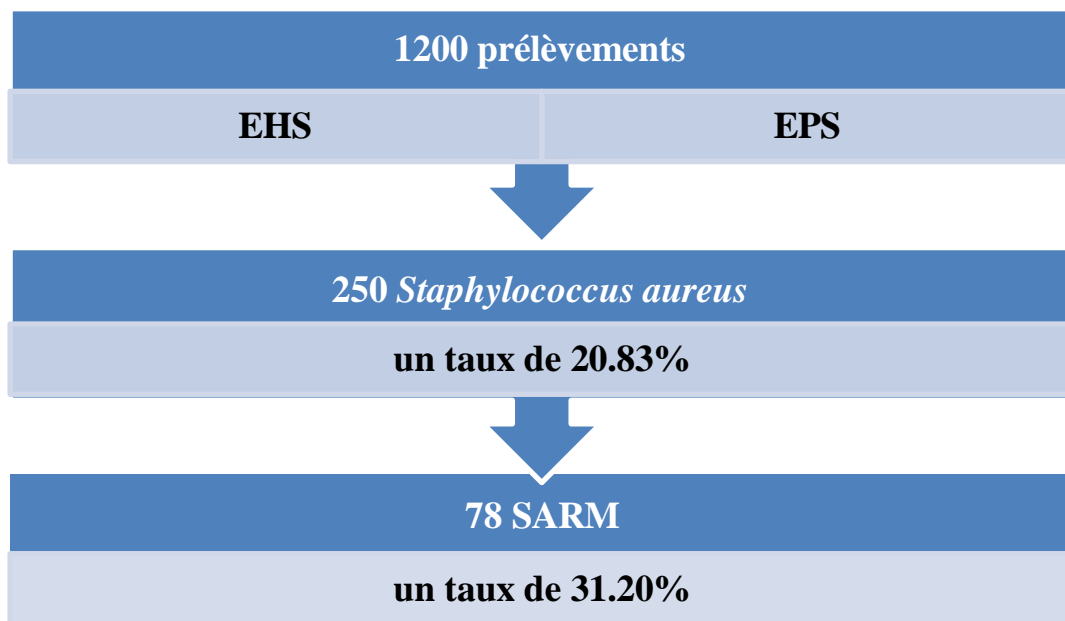


Figure19 : L'analyse des prélèvements collectés des différents milieux hospitaliers.

Tableau 10 : Distribution des souches *S. aureus* selon le type de prélèvement.

Type de prélèvements	N	%
Pus	197	78.80%
Urine	45	18%
Pre. Vaginal	8	3.20%
Total	250	
	100	

2. Identification de l'espèce *S. aureus*

L'examen microbiologique a permis l'identification de 250 souches qui sont des cocci à Gram positif et immobiles, on se basant sur les caractères morphologiques, et la galerie API Staph a défini l'espèce aureus selon les caractères biochimiques. Cette identification a révélé l'existence préalablement défini de l'espèce aureus par rapport à d'autres espèces de staphylocoques.

2.1. L'examen macroscopique

L'examen macroscopique des souches bactériennes sur milieu Chapman a montré des petites colonies jaune doré de 1 à 2 mm, arrondies à bords régulier avec une acidification du milieu qui est due à la fermentation du mannitol (mannitol+) (**Fig. 20**). Sur la gélose nutritive, les colonies sont régulièrement rondes, bombées, luisantes, opaques, à contours nets, avec un diamètre de 1,5 à 2 mm, peuvent avoir une pigmentation caractéristique non diffusible de *S. aureus* : jaune doré (**Fig. 21**).

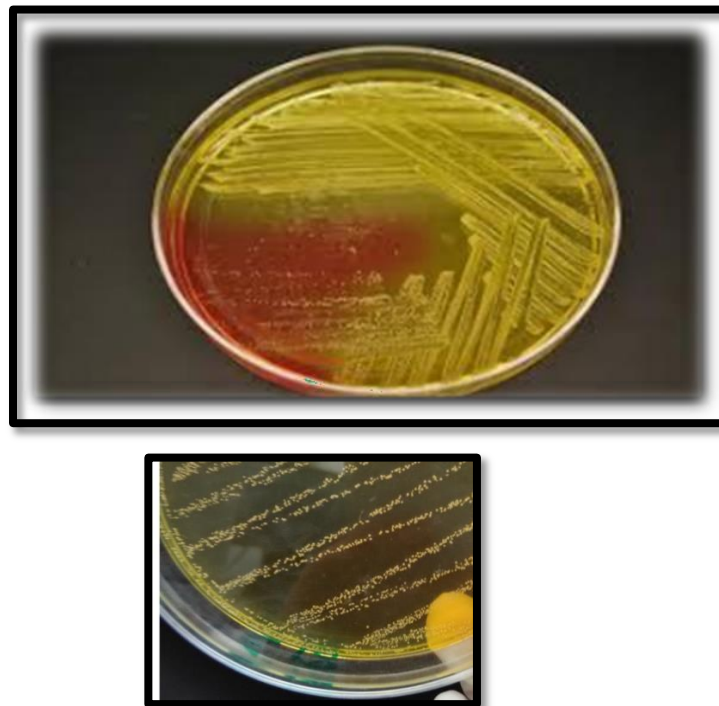


Figure20 : L'allure des colonies de l'espèce *aureus* sur Chapman.



Figure 21 : *S. aureus* sur milieu G.N

2.2. L'examen microscopique

L'examen microscopique des souches bactériennes étudiées a révélé l'observation des cocci à Gram positif (violet), qui sont regroupés en diplocoques ou en amas sous forme de grappes de raisin (**Fig. 22**).

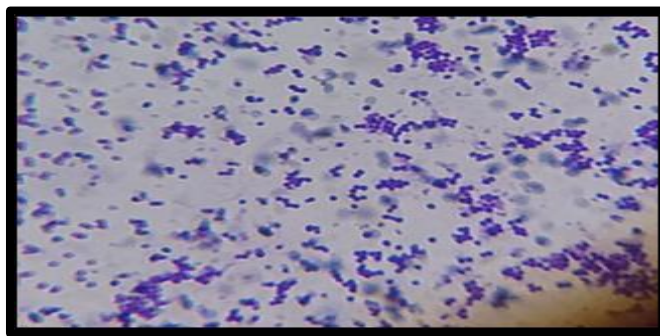


Figure 22: Aspect de coloration de Gram de *S. aureus*

2.3. L'identification biochimique

Les souches qui ont donné des colonies jaunes dorés avec fermentation du mannitol ont montré une réaction positive à la :

2.3.1. Catalase : En présence d' H_2O_2 , la formation des bulles d'air montre la présence de catalase comme une enzyme préexistante dans l'espèce étudiée, donc la catalase est un marqueur classique d'identification de l'espèce aureus. (**Fig. 23**)

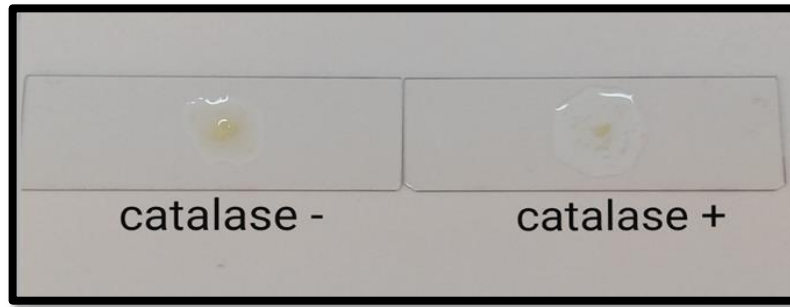


Figure 23: Résultat de test Catalase

2.3.2. Coagulase: La prise en masse du mélange (plasma oxalaté et une anse de souche de *Staphylococcus*) confirme la présence de l'enzyme Staphylocoagulase. Il s'agit donc de souches de *S. aureus*. La coagulase est une enzyme clé dans le dépistage de l'espèce *aureus*. (**Fig. 24**)



Figure 24: Résultat positif de test de coagulase

2.3.3. Les Biotypes des souches *S. aureus* par l'usage de l'API Staph

Les galeries API Staph miniaturées se basent sur des tests enzymatiques et des tests de métabolismes glucidiques. Les résultats de la galerie pour 250 souches nous a permis de trouver les principaux caractères biochimiques de l'espèce *aureus*. Selon le profil numérique des différentes galeries, on a pu identifier quatre biotypes essentiels dont le plus fréquent étant le biotype 6336153 avec un pourcentage de 41%.

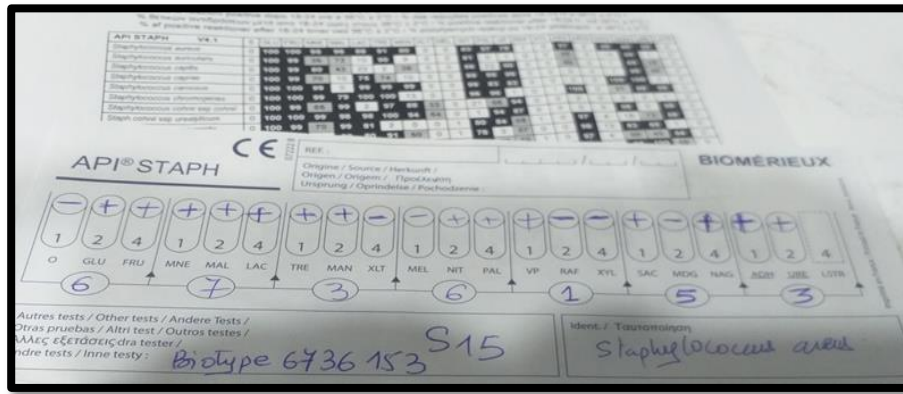


Figure 25 : Fiche de bio typage d’une souche *S. aureus* 6736153



Figure 26 : résultat d’une API Staph pour la souche S15.

Tableau 11 : Répartition des *S. aureus* selon le biotype

Biotype	% de <i>S. aureus</i> (250)
6336153	102 (41%)
6736153	85 (34%)
6736113	42 (17%)
6736112	21 (08%)

3. *S. aureus* : données épidémiologiques et cliniques

3.1. Caractéristiques démographiques des patients

Les patients hospitalisés qui présentent une infection par *S. aureus* sont reparti en un nombre de 140 (56 %) hommes et 110 (44 %) femmes, avec un sexe ratio : 1.27. L'âge moyen des patients était de 36 ans pour le sexe male et 44 ans pour les femelles.

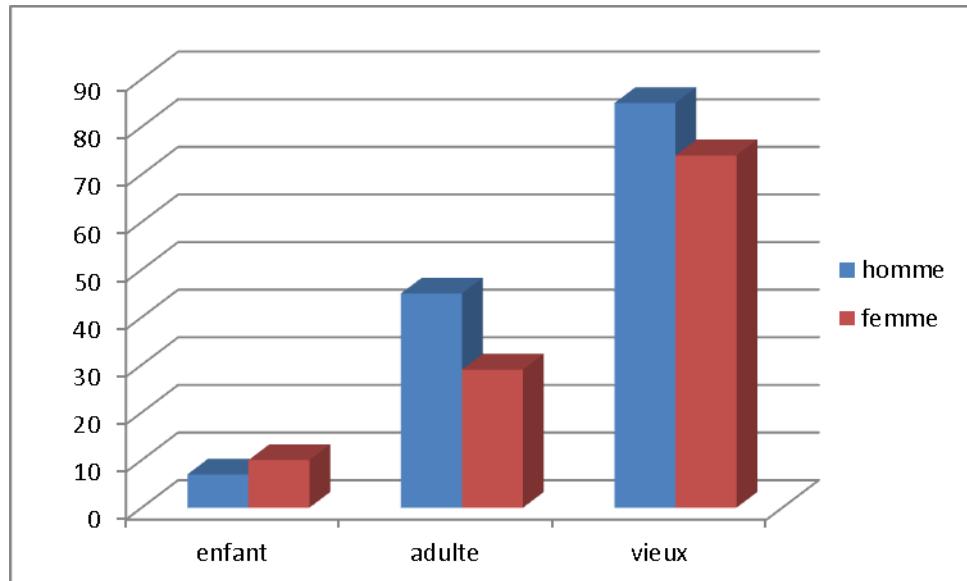


Figure 27 : Présentation d'âge et du sexe des patients infectés par *S. aureus*

Les adultes et les vieux ont tous deux une prédominance importante de la classe des hommes dans les différentes tranches d'âges. Par contre, pour les enfants, la dominance est féminine (<15 ans). Sur les 250 patients hospitalisés ; on note un nombre de 144 (57.60%) personnes âgées, 89 (35.60%) adultes et 17(06.80%) enfants.

3.2. Répartition des souches *S. aureus* selon les sites de prélèvements

L'hôpital Mohamed Chbouki à Chéria présente un taux d'infection à *S. aureus* de 39% (n=60) avec une dominance par rapport à l'hôpital Tijani Hadam à Bir el Ater avec 28% (n=47), la maternité Khaldi A/Aziz avec 18% (n=37). Enfin la clinique Alia Saleh et l'hôpital Bouguerra Boulares de Bekkaria avec 8% et 7% respectivement (Figure 28).

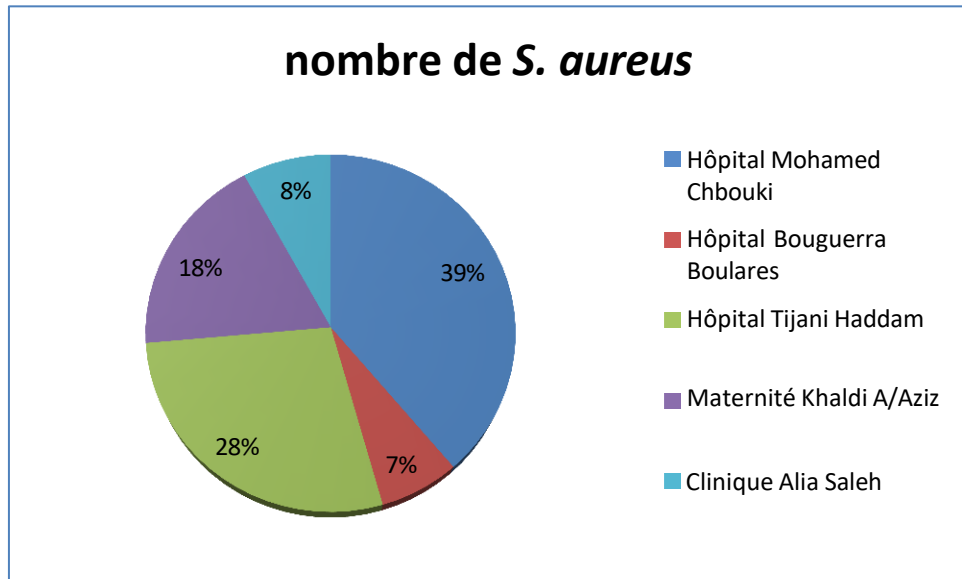


Figure 28 : Répartition des souches *S. aureus* selon les sites de prélèvements

3.3. Répartition des souches *S. aureus* selon le type du service

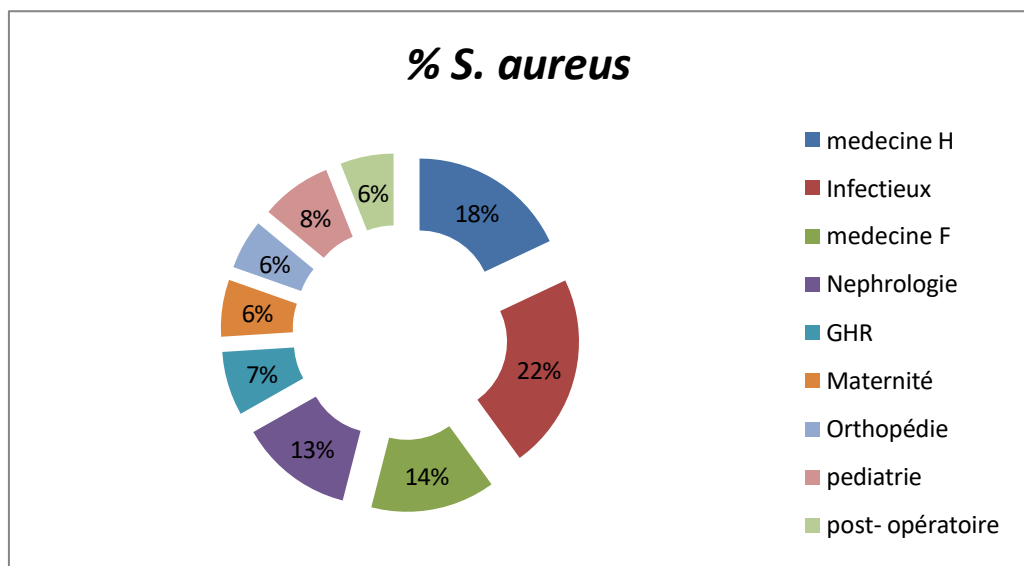


Figure 29 : Répartition des souches *S. aureus* selon les services.

La dominance des prélèvements à *S. aureus* proviennent de l'infectieux (22%, n=55), suivi par la médecine homme (18%, n=45), la médecine femme (14%, n=35), néphrologie (13%, n=32), la pédiatrie (08%, n=20), la GHR (07%, n=18).

3.4. La distribution des *S. aureus* par rapport aux différents types d'infections

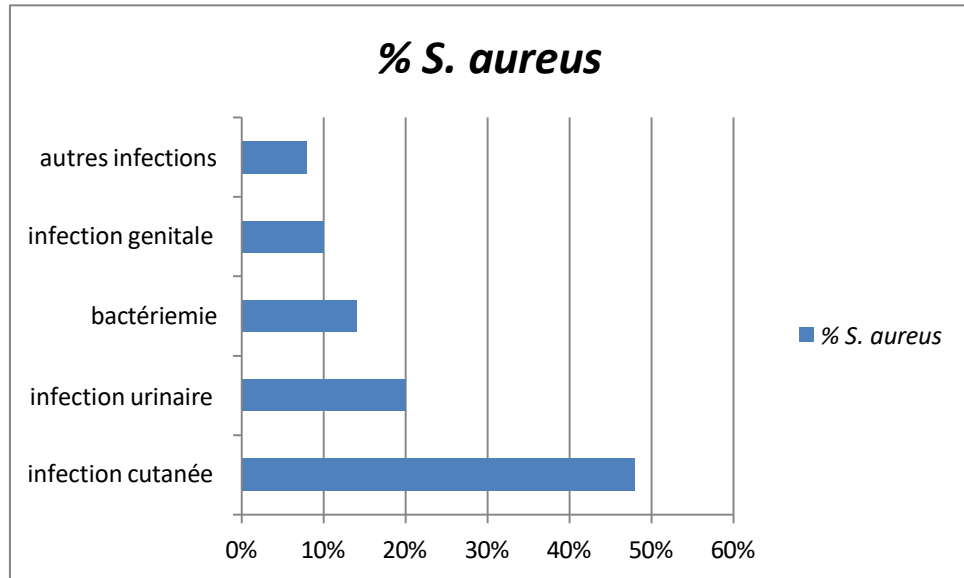


Figure 30 : Atteinte par *S. aureus* selon les types d'infections.

On note la dominance des infections cutanées (n = 120, 48%), suivi par les infections urinaires (n = 50, 20%). Les autres infections qui présentent aussi des *S. aureus* étaient des bactériémies (n=35, 14%), des infections génitales (n=25, 10%) et autres infections non identifiées (n=20, 08%) (Figure 28).

4. SARM: données épidémiologiques et cliniques

4.1. Prévalence des SARM

En ce qui concerne les SARM, 78 souches de *S. aureus* se sont avérées résistantes à la méticilline (ou à l'oxacilline), avec un taux de 31.20%.

4.2. La détection phénotypique de la méticillino-résistance :

78 souches qualifiées comme SARM ont été identifiées dans notre étude. Selon les recommandations de CA-SFM, 2021, le test de céfoxitine a été utilisé pour dépister ces souches, qui ont montré des zones d'inhibition inférieures à 19 mm. La résistance à l'oxacilline a également été confirmée par le test de screening et des résistances à la céfoxitine et à l'oxacilline ont également été enregistrées.

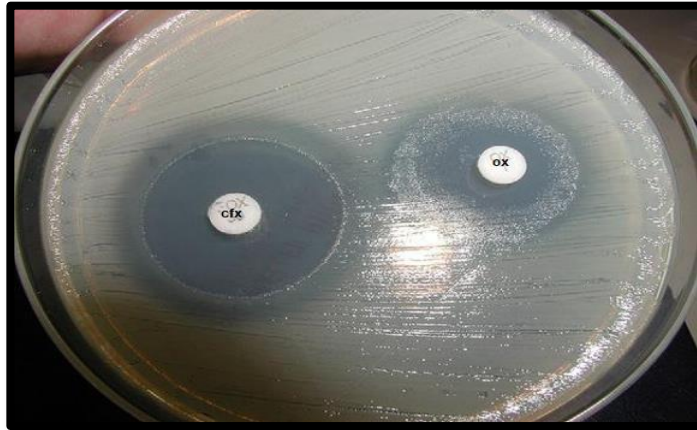


Figure 31 : Test à la cefoxitine et à l'oxacilline

4.3. Test de screening

Ce test a révélé 78 souches résistantes à l'oxacilline, donc le taux de SARM était de **31.20%**. Ces souches présentent une résistance croisée entre l'oxacilline et toute la famille de β -lactamines.



Figure 32 : Test de screening

4.4. Taux des SARM et SASM selon la nature de prélèvement.

Tableau 12: taux des SARM et SASM selon le type de prélèvement

Type de prélèvement	SARM (%)	SASM (%)
Pus	87.18%	12.82%
Urine	8.97%	91.03%
Prélèvement vaginal	3.84%	96.16%
IC	16.05-37.79	
valeur-P	0.04	

Le taux des SARM dans les prélèvements de pus représente le pourcentage le plus élevé de 87.18%. Il est significatif par rapport aux autres prélèvements.

4.5. Répartition des SARM et SASM selon le sexe.

Tableau 13: taux des SARM et SASM selon le sexe.

Sexe	SARM (%)	SASM (%)
Homme	44.87	55.13
Femme	55.13	44.87
Population	31.2	68.8
Intervalle de confiance	18.17-33.87	
Valeur P	= 0.06	

Pour 250 souches de *S. aureus*, 78 SARM et 172 SASM ont été isolé ; soit un pourcentage de 31,2% et 68,8%. Aucune prédominance des infections à SARM par rapport au sexe n'a été signalée dans cette étude.

4.6. Répartition selon l'âge des SARM et SASM.

Tableau 14: Taux des SARM et SASM selon l'âge.

Age	SARM (%)	SASM (%)
Adulte	19.23%	80.77%
Vieux	71.79%	28.21%
Enfant	9.15%	90.15%
IC	6.19-41.03	
Valeur-P	0.04	

On a constaté que les vieux sont les plus contaminés par les SARM plus que les autres patients avec des isolats de SASM (28.21%) ($p < 0,05$). Cependant on a noté que les infections à SASM touchent plus que les enfants (90.15%) que les infections à SARM (9.15%) ($p < 0,05$).

4.7. Relation entre les facteurs épidémiologiques et les souches SARM

Par l'analyse des correspondances factorielles multiples (AFCM). Les résultats montrent que la variable la plus pertinente est la nature de prélèvement suivi de facteur d'âge puis l'usage des β -lactamines, alors que le facteur sexe n'a pas une relation avec l'atteinte par les souches SARM (Figure33)

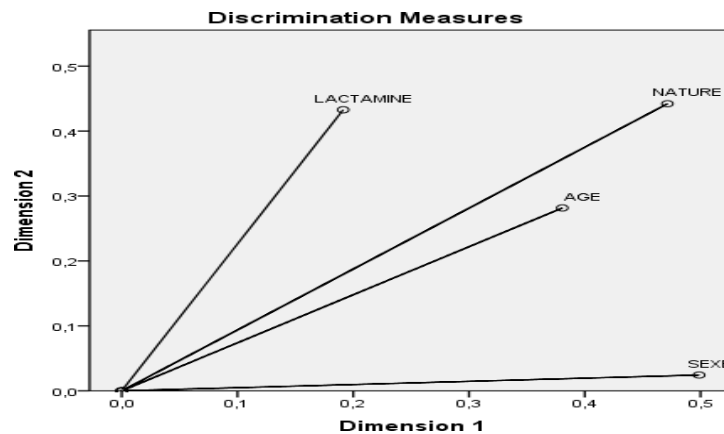


Figure 33 : l'analyse des correspondances factorielles multiples (AFCM)

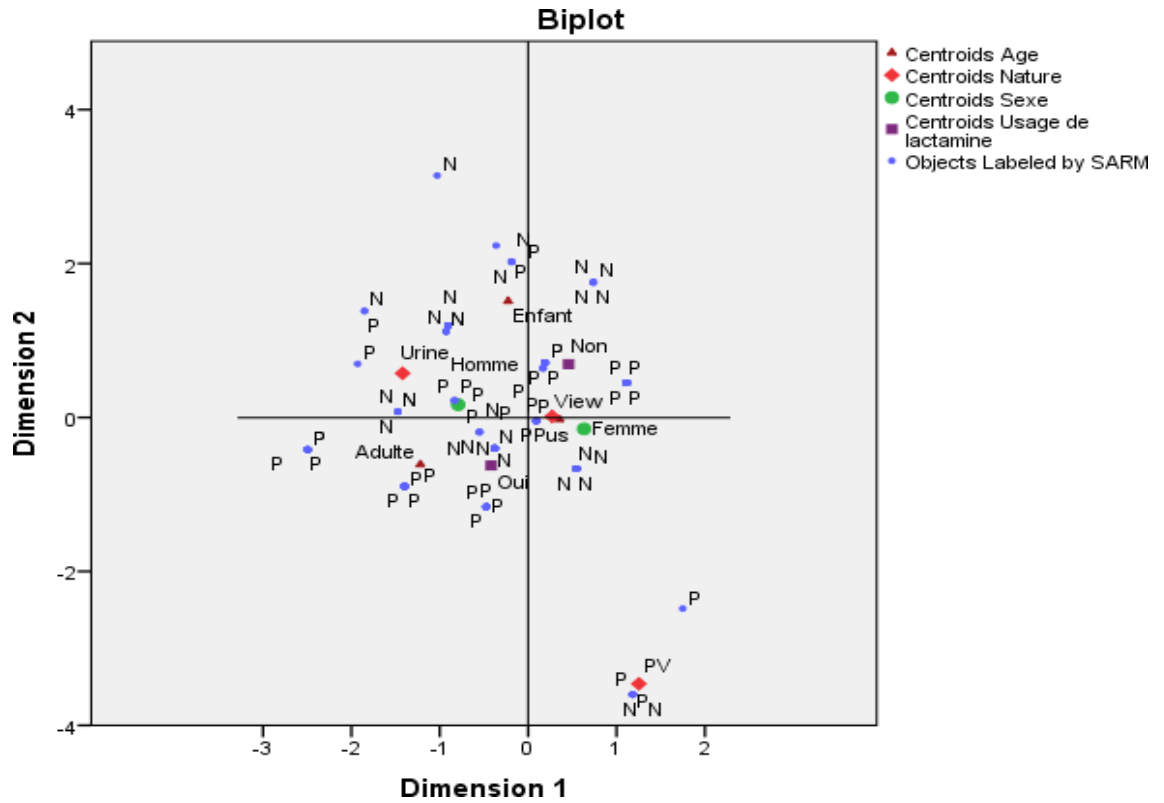


Figure 34 : Le graphe biplot

Le biplot montre que la population touchée par les SARM dans notre échantillonnage est la tranche des sujets âgés hospitalisés qui souffrent des maladies infectieuses liées ou non aux facteurs des maladies chroniques. Les prélèvements les plus touchés de ces patients sont les pus et qui ont pris des β -lactamines à plusieurs prises ; dont ils ont acquis le gène de résistance à la famille des β -lactamines.

4.8. Taux des SARM et SASM selon le type de service

La distribution des souches SARM/SASM dans les services, présente deux différences notables : les SARM sont plus élevés que les SASM au niveau du service infectieux (55%) et post-opératoire (54%). De plus, le taux des SASM est élevé au niveau des autres services (Figure 35).

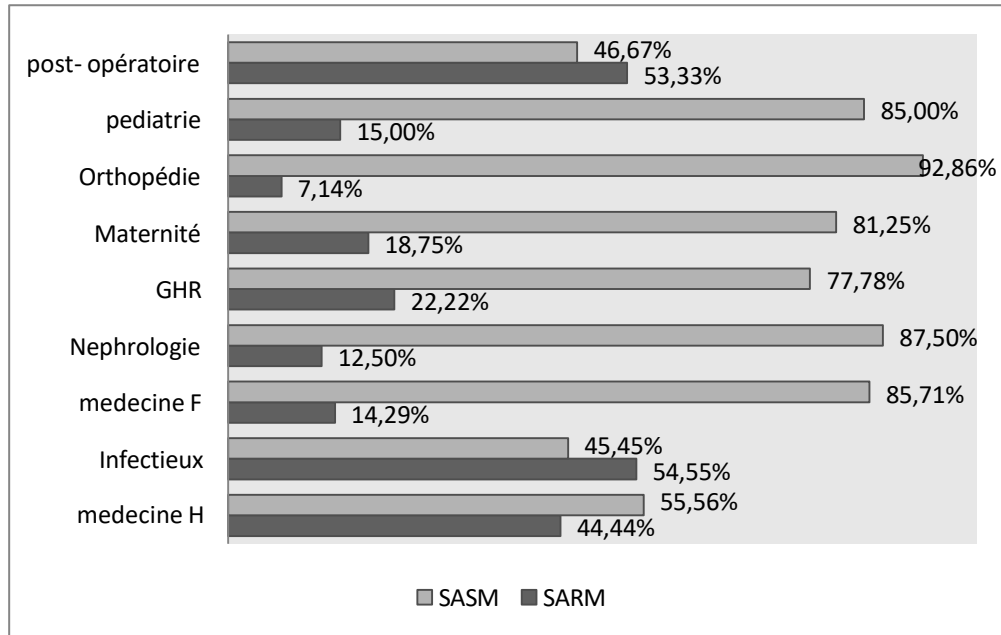


Figure 35 : Taux des souches SARM et SASM selon le type de service.

4.9. Répartition des infections en fonction des souches SARM et SASM

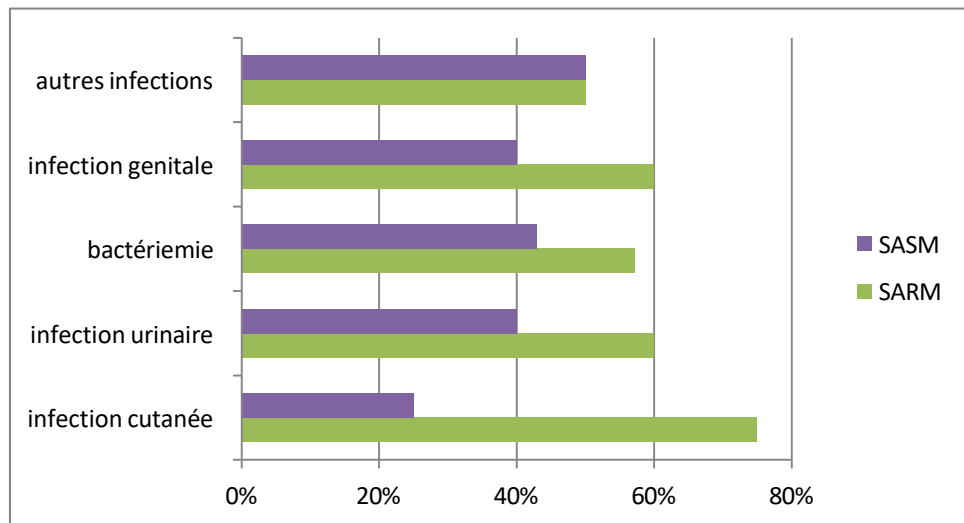


Figure 36 : Répartition des souches SARM et SASM selon le type d'infection.

Dans cette étude les dermatites étaient principalement causées par les SARM isolés, représentant près de 78% des cas enregistrés. Les furoncles, les abcès cutanés, le pied diabétique étaient parmi ces infections, suivis des infections urinaires et génitales. Les ostéomyélites (6 %), les gastrites, l'otite et l'arthrite étaient les infections restantes.

4.10. Répartition des SARM et SASM selon l'utilisation des antibiotiques dans les services.

Tableau 15: risque d'utilisation des β -lactamines

L'antibiotique	SARM	SASM
Usage de β -lactamines	52.56%	47.44%
Autres antibiotiques	48.38%	51.62%
IC	25.33-40.40	
Valeur-P	0.0001	

Le choix de l'utilisation des antibiotiques dans les différents services est un facteur important de présence et /ou absence des SARM ; 52.56 % ont été isolés chez les patients sous β -lactamines, alors que 48.38 % des SARM, ont été isolés chez les patients sous d'autres antibiotiques. La voie de thérapie la plus utilisée pour traiter ces infections est la monothérapie dont la molécule de choix est l'oxacilline dans la majorité des cas. L'utilisation des β -lactamines favorisent la multiplication des SARM par sa résistance à cette classe, ce qui favorise l'émergence de ces souches dans le milieu hospitalier.

5. Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques

5.1. Résistance des *S. aureus* aux antibiotiques testés

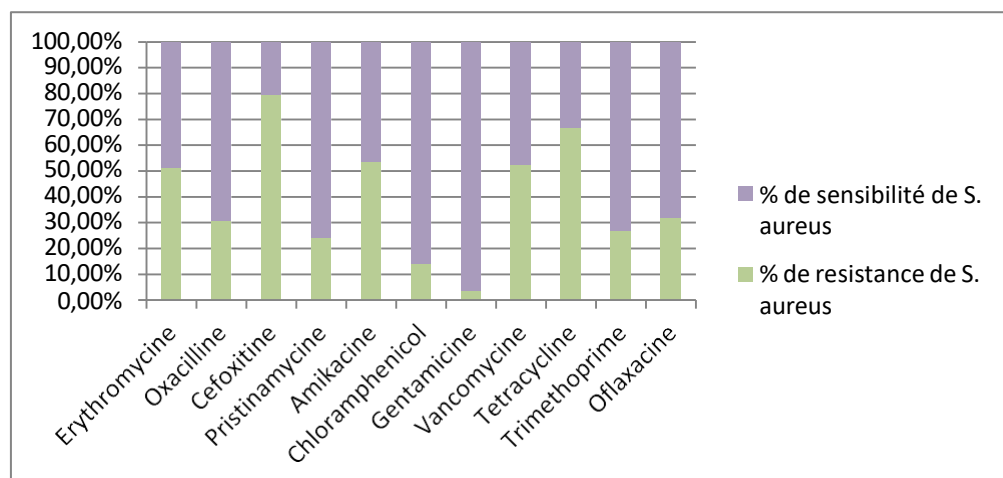


Figure 37 : Résistance des *S. aureus* aux antibiotiques testés

Les *S. aureus* isolés des différents prélèvements hospitaliers ont montré une résistance à plusieurs familles d'antibiotiques ; la famille des tétracyclines avec un pourcentage de 79,49 %, la famille des macrolides (érythromycine) avec 51,28 %, et leur conférant une résistance à certains aminoglycosides (amikacine et gentamicine) avec respectivement 53,85 et 3,85%. Cependant, les pourcentages de résistance des isolats à la vancomycine, au chloramphénicol, à la pristinamycine, au triméthoprim et à l'oflaxacine étaient respectivement de 52.56, 14.10, 24.36, 26.92 et 32.05 %.

5.2. Résistance des SARM aux antibiotiques testés

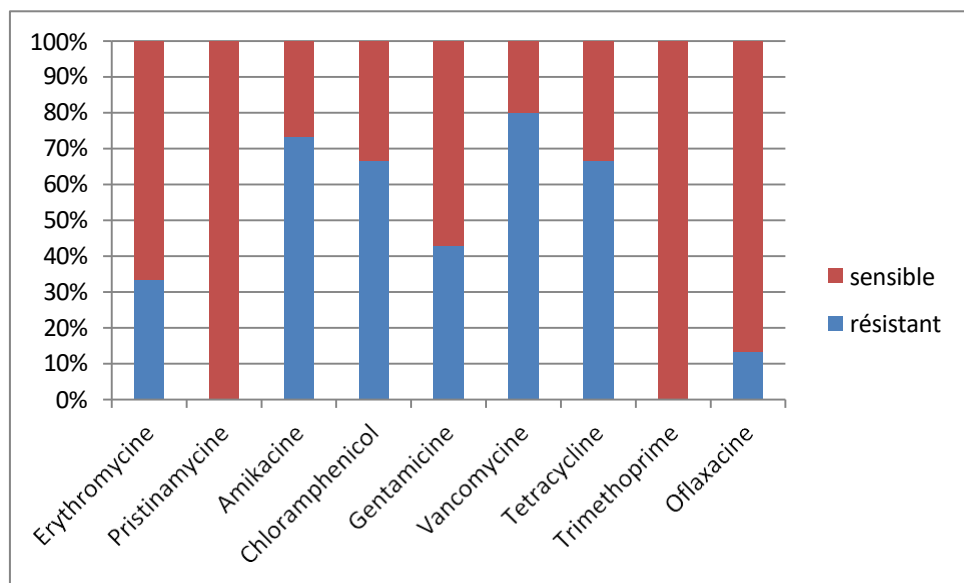


Figure 38 : Résistance des *SARM* aux antibiotiques testés

Le SARM isolé à partir d'échantillons hospitaliers a montré une résistance pour d'autres antibiotiques; famille des tétracyclines avec un pourcentage de 67 %, la famille des macrolides (érythromycine) avec 32%, et leur conférant une résistance à certains aminoglycosides (amikacine et vancomycine) avec respectivement 72 et 81 %. Cependant, les pourcentages de résistance des isolats à la gentamicine, au chloramphénicol et à l'oflaxacine étaient respectivement de 41%, 67% et 12 %. Par contre, on note une sensibilité à 100% à la pristinamycine et au triméthoprim.

5.3. Profil de résistance des SARM

Tableau 16: Phénotypes de résistance des SARM.

Profils de résistance des SARM	SARM	(n=78)
ERY, TET, AMK, CLO, OFL, VAN	1	
ERY, TET, AMK, CLO, OFL	20	
ERY, TET, AMK, OFL	15	
ERY, AMK, OFL, GEN	12	
ERY, TET, OFL	3	
ERY, TET, VAN	11	
ERY, AMK, OFL	2	
ERY, TET	5	
AMK, TET	2	
TET, OFL	1	
ERY, CLO	1	
TET	3	
ERY	2	

KAN: kanamycine, **ERY:** erythromycin, **GEN:** gentamicine, **OFX:** ofloxacin, **TET:** tétracycline, **CLO:** chloramphenicol, **VAN:** vancomycine.

On a observé chez les SARM une dominance des profils ERY, TET, AMK, CLO, OFL; KAN, ERY, TET, AMK, OFL, et ERY, AMK, OFL, GEN, ces profils semblent endémiques dans les services; infectieux, médecine femme et médecine homme. On a remarqué aussi une seule souche résistante à presque tous les antibiotiques testés ERY, TET, AMK, CLO, OFL, VAN sauf triméthoprim et pristinamycine que toutes les souches SARM sont sensibles.

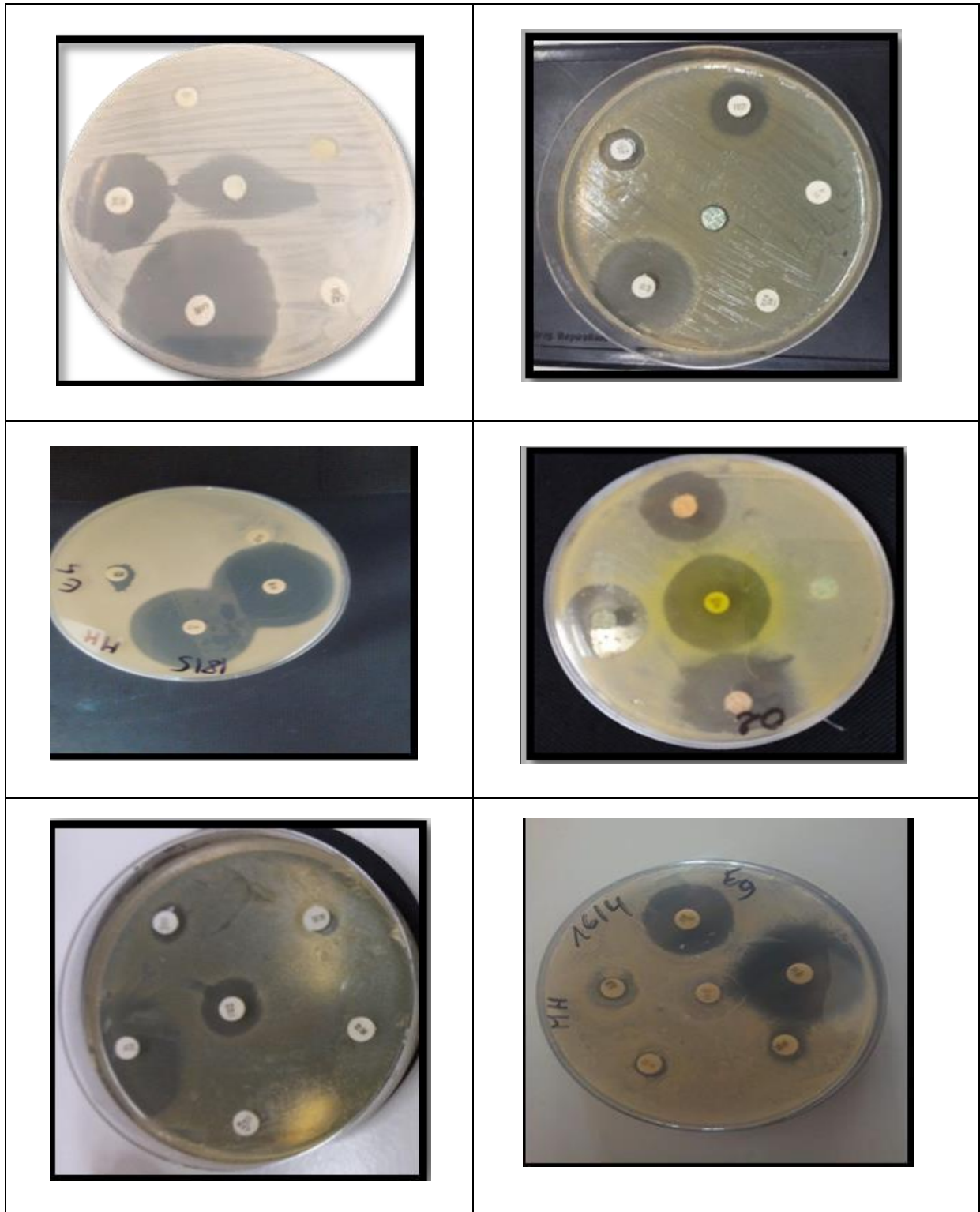


Figure 39: Des souches SARM multi résistantes

5.4. Résistance des SASM aux antibiotiques testés

5.4.1. Fréquence de la résistance

Sur les 250 *S. aureus* préalablement identifiées par la méthode de diffusion sur gélose; 172 souches sont avérées sensibles à la famille des β -lactamines principalement sensibles à l'oxacilline et à la céfoxitine. Soit un taux approximatif de 68.8% (172/250). On a remarqué que le SASM est résistant à d'autres familles d'antibiotiques malgré sa sensibilité à l'oxacilline. Par conséquent, 54 (31.85 %) souches étaient résistantes à la triméthoprine, 9 (5.26%) étaient résistantes à l'amikacine, 18 (10.53%) étaient résistantes à la vancomycine, 36 (21.05%) étaient résistantes à l'ofloxacin, 154 (89.47%) étaient résistantes à l'érythromycine, 36 (21.05%) étaient résistantes au chloramphénicol, 54 (31.85) à la tétracycline, 72 (42.11%) pristinamycine. Les autres antibiotiques, tels que la gentamicine oxacilline et la céfoxitine, ont gardé leur activité.

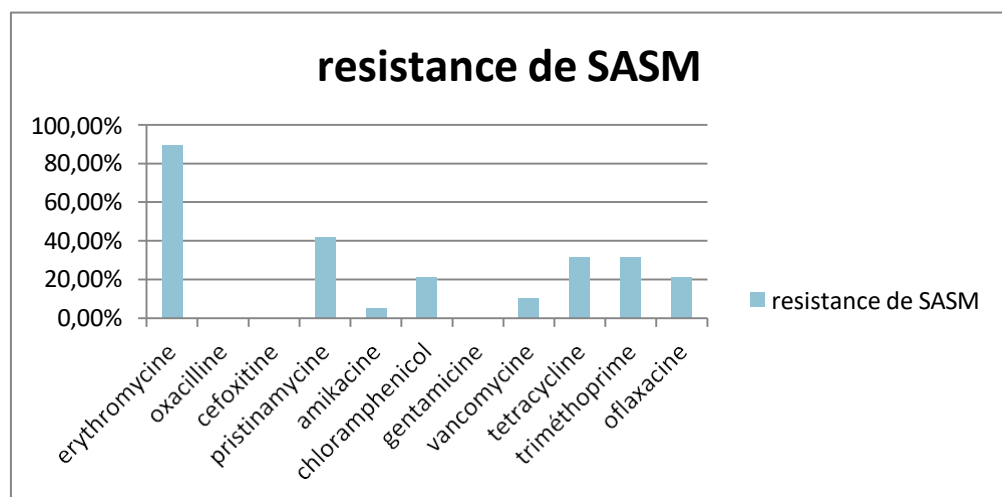


Figure 40 : Résistance des SASM aux antibiotiques testés

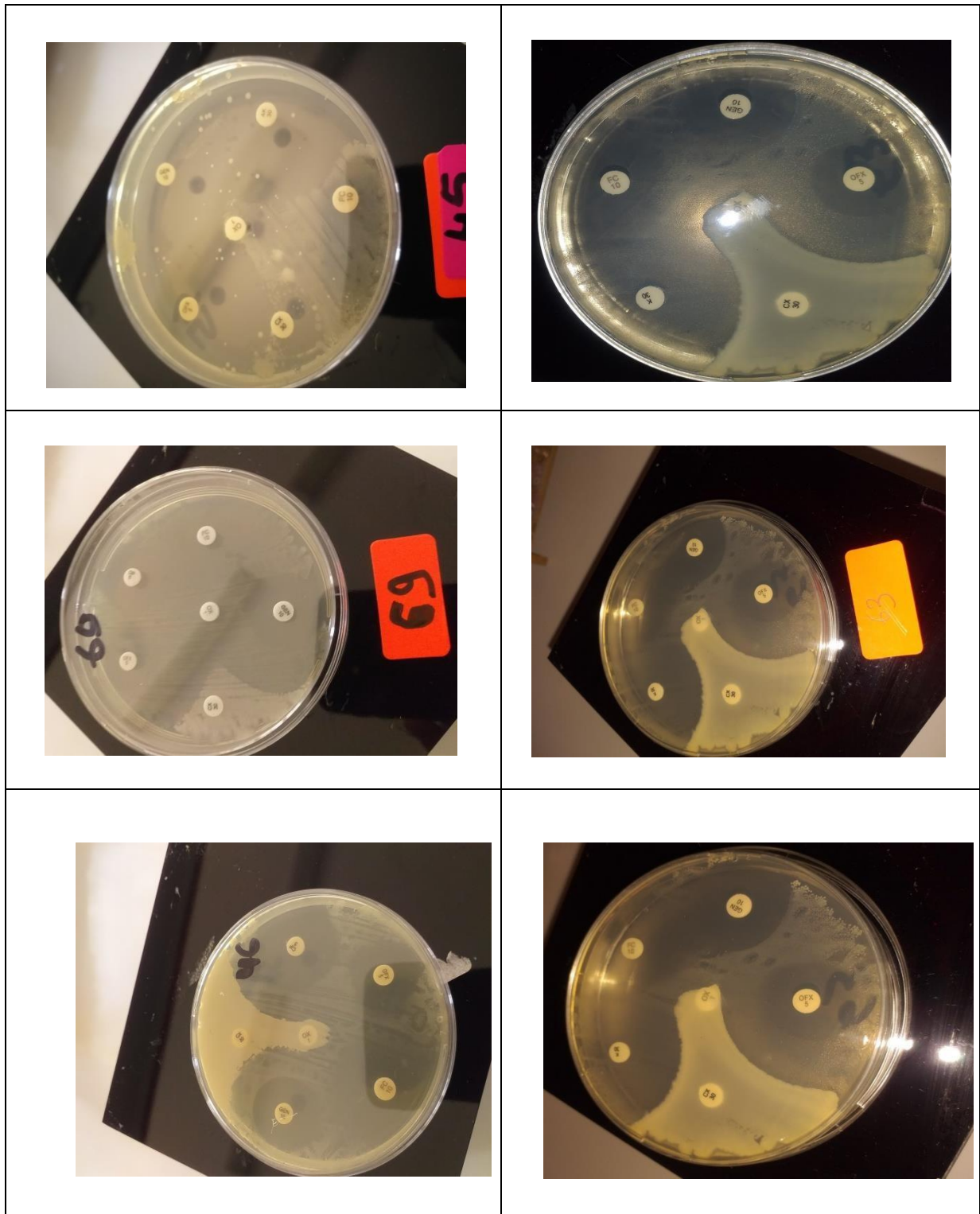


Figure 41: Des souches SARM non résistantes aux autres antibiotiques

6. Détection du gène mec A

6.1. Mesure des concentrations et puretés des extraits d'ADN

Les concentrations d'ADN ont été mentionnées dans le tableau suivant.

Tableau 17: concentration des extraits d'ADN

Numéro d'échantillon	Concentration en ng/ul
NS1	376.53
NS2	360.27
NS3	233,6
NS4	156.75
NS5	255.22

6.2. Détection du gène mec A

La résistance des souches *S. aureus* à la meticilline isolées des différents échantillons hospitaliers a été dépistée par des méthodes phénétiques reste à confirmer par la détection du gène mec A. cette méthode a été appliquée sur 05 souches qu'on a confirmé par l'extraction d'ADN, révélé par l'électrophorèse et amplifié par la présence des amorces du gène mec A. En effet, la technique d'extraction par kit DNA Easy Tissue est simple et reproductible, ce qui en fait un excellent outil d'exploration (**Dandan et al., 2020**).

Le résultat de l'amplification du gène mec A pour cinq souches de *Staphylococcus aureus* a révélé que quatre souches résistantes à la meticilline (SARM) isolées du milieu hospitalier et préalablement testées par la méthode phénétique basée sur des caractères d'identification morpho-physio-biochimiques avaient le gène mec A. Les bandes ont été trouvées aux niveaux identiques à ceux des témoins positifs sur la piste 02, 03, 07 et 10. Pour la piste 11 est le témoin positif (**Fig. 42**).

La souche qui ne possède pas le gène mec A, il s'agit d'une résistance intermédiaire à la meticilline ou bien faible qui due à une diminution de la synthèse de la protéine PLP pour certaines ou bien une résistance par la production de méticillinase ou l'oxacillinase qui a comme substrat privilégié la méticilline et l'oxacilline (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

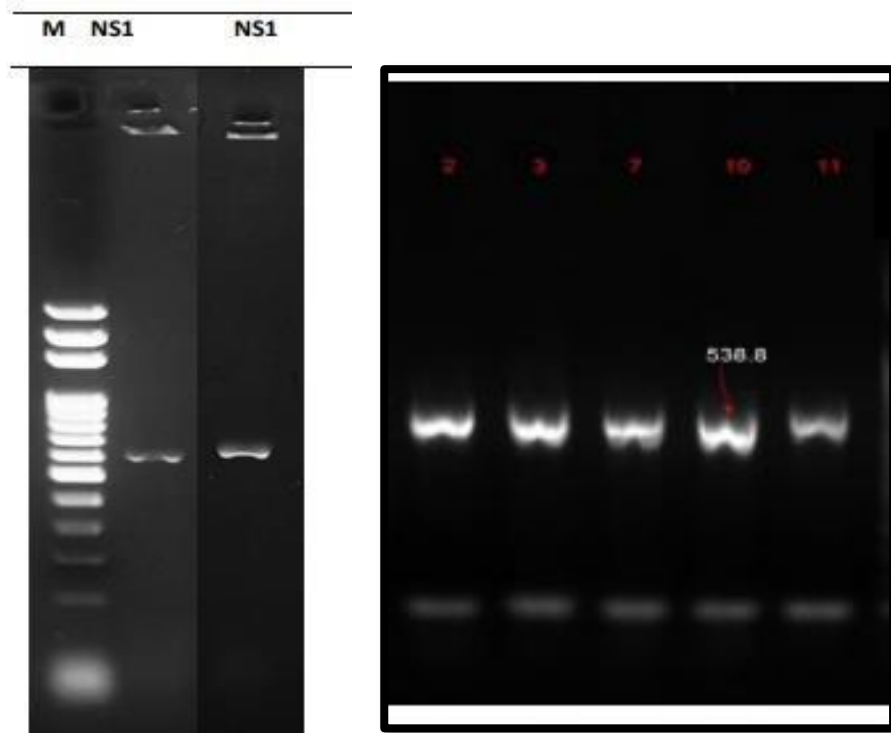


Figure 42 : Electrophorèse sur gel d'agarose du gène mec A

Discussion

La résistance à la méticilline de l'espèce *Staphylococcus aureus* (SARM) est devenue omniprésente dans les hôpitaux du monde entier. Elle représente une importante préoccupation dans tous les services hospitaliers, surtout les services à haut risque infectieux qui possèdent des patients immunodéprimés, nécessitant des hospitalisations prolongées et de nombreuses procédures invasives, pouvant être soumis à une forte pression d'antibiotique. Cette réalité alarmante discute le taux de la prévalence, des facteurs de risque de colonisation et de l'intérêt d'étudier l'incidence et la dissémination de ces souches dans divers milieux hospitaliers. Dans certaines infections telles que les bactériémies ; ces bactéries sont plus dangereuses en raison du retard dans l'instauration d'un traitement efficace, ce qui entraîne une surmortalité. La proportion de SARM reflète aussi la qualité des soins dans un hôpital.

L'étude de la prévalence des SARM des différents milieux hospitaliers sur le territoire de la wilaya de Tébessa est la première étude qui a montré le profil d'anti bio résistance des SARM-H dans les hôpitaux algériens dans cette région, ainsi que le premier rapport sur le taux d'incidence des infections à SARM dans le sud-est algérien. Le taux de SARM s'élevait à 31.2% des isolats de *S. aureus*. L'hôpital Mohamed Chbouki à Cheria a enregistré les taux les plus élevés dans les services infectieux (55%) et postopératoire (54%).

1. Incidence et fréquence

L'étude a révélé 250 souches de *S. aureus* isolées à partir de 1200 prélèvements pathologiques sur la base des critères morpho-physio-biochimiques avec un pourcentage de 20,83% ; la coloration de Gram, la recherche de catalase, de coagulase et la galerie d'identification Api 20 Staph nous ont permis d'identifier nos souches de *S. aureus*. Le test de dépistage à l'oxacilline et l'antibiogramme ont permis de détecter 78 SARM, soit 31,2 %, près des moyennes décrites ailleurs (**Davido, 2018 ; Fridkin, 2005**), Pakistan (43 %), Europe (2010-2011) (26,7 %) et Colombie (31 %) (**Tayyabur et al., 2020 ; Garau et al., 2013 ; Reyes et al., 2009**). Ces résultats corroborent avec ceux de Touaitia, 2015 (44.6 %) et sont éloigné des résultats de T. Hubiche et al. Dont le pourcentage trouvé est de 8.3% de SARM. Cependant, les résultats diffèrent de ceux de la France (52 %) et de la Colombie (68,3 %) (**Thiolet et al., 2007; Valderrama et al., 2019**).

Contrairement aux résultats de Ficca *et al.*, (2006) en France 2005, onze souches résistantes à la méticilline ont été trouvées parmi les 254 porteurs, soit 4,33 % de la population totale étudiée. La fréquence du SARM est d'environ 35,7 % dans les pays en développement, en particulier en Afrique. Les taux les plus élevés sont observés en Egypte (60 %) et au Sénégal (72 %), tandis que les taux les plus bas sont observés à Madagascar (5,8%), au Nigeria (16 %) et en Tanzanie (16 %) (**Saied *et al.*, 2011; Seydi *et al.*, 2004; Shittu *et al.*, 2012**). Les résultats de cette étude sont similaires à ceux du Réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, qui a rapporté un taux de 32,67% en 2012 (**Rahel *et al.*, 2012**), ainsi qu'à ceux des autres pays maghrébins, comme le Maroc et la Tunisie, qui ont rapporté un taux de 18,5% et un taux de 40,5% respectivement (**Mesrati *et al.*, 2010**).

En général, le SARM était de 31,20% (78/250), avec une différence non significative de prévalence dans plusieurs hôpitaux de la wilaya de Tébessa. Ce taux de SARM relativement élevé pourrait être expliqué d'une part par l'accumulation de plusieurs mécanismes de résistance chez ces souches en raison de la flexibilité génétique de *Staphylococcus aureus*, qui lui a permis d'acquérir plusieurs modifications et composants génétiques (**Hiramatsue *et al.*, 2001**) et d'autre part par une pression de sélection causée par une utilisation irrationnelle des antibiotiques. La prévalence du SARM était très différente entre les hôpitaux, les régions et les pays. L'existence ou non de souches épidémiques, le moment de l'étude, la présence de patients à risque, le transfert de patients entre différents services, la pratique d'une politique de contrôle des infections et la fiabilité des méthodes de laboratoire utilisées peuvent expliquer ces variations.

2. Facteur de risque

L'hospitalisation prolongée, les soins intensifs, le traitement antimicrobien prolongé et la proximité immédiate d'un patient hospitalisé infecté ou colonisé par les SARM font partie des facteurs associés à un risque plus élevé d'acquisition nosocomiale de *S. aureus* et des SARM. Au total, 250 personnes ont été infectées par *S. aureus*, 110 chez les femmes (44%) et 140 chez les hommes (56%). L'identification de SARM a révélé 78 échantillons positifs contre 68,8 % d'échantillons non positifs. Lorsque les échantillons ont été testés, 43 étaient des femmes (55,13 %) et 35 étaient des hommes (44,87 %), avec un ratio sexe/sexe de 0,81.

Les facteurs liés au sexe du patient, dont la majorité des études ont révélé que le taux de SARM est plus élevé chez les hommes que chez les femmes. Ces résultats ont été rapportés en Algérie (**Antri et al., 2010**), au Taiwan (**wang et al., 2010**) et aux États-Unis (**Srinivasan et al., 2009**). Notre étude a découvert que l'infection à SARM n'a pas une relation avec le facteur sexe avec un pourcentage de 55.13% femmes et 44.87% hommes. Cela se confond avec les résultats de l'étude de Davido (2018), qui a trouvé que le sexe féminin était de 60 % et que le sexe masculin était de 40 %, ainsi que les résultats d'Oman, où la majorité des SARM étaient féminines (**Pathare et al., 2015**). Le sexe peut être un facteur de risque, selon l'étude (**Oberholzer et al., 2000**).

A partir de 250 patients atteints de *S. aureus*, 144 patients âgés (57,6%), 17 enfants (6,8 %) et 89 adultes (35,60 %) ont été identifiés. 71,79 % des échantillons positifs au SARM étaient des patients âgés, 19,23 % des adultes et 9,15 % des enfants, respectivement. Avec $p = 0,04$, il y avait une différence statistiquement significative entre les âges moyens des patients infectés et non infectés. Les personnes âgées sont toujours en danger d'être infectées (**Chadi et al., 2016**), ce qui confirme notre étude. La prévalence des SARM est plus élevée chez les personnes âgées, avec un taux de 71,79 %. Cela corrobore les résultats de Davido (2018), qui ont découvert que les patients âgés en France contenaient un taux de 100% de porteurs de SARM. Ces résultats confirment que l'âge avancé est lié à l'apparition de maladies chroniques telles que le diabète, ce qui altère l'immunité et rend le corps sensible à la colonisation par les bactéries, en particulier celles nosocomiales (**Lowy, 1998**). Ainsi, il existe une corrélation entre l'âge et l'infection par les SARM (**Bradley, 2002**). Les personnes présentant des facteurs de risque comme ; l'hospitalisation, la chirurgie, la résidence dans des établissements de soins à long terme, l'hémodialyse, les personnes infectées par le VIH, le diabète et les personnes âgées, sont plus susceptibles de contracter une infection à *S. aureus*. De plus, la maladie du diabète et ses complications augmentent avec l'âge et peuvent affecter la prévalence des infections aux SARM chez les personnes âgées. Ceci explique le lien entre le facteur âge et le taux élevés des SARM chez les sujets âgés. Par conséquent, cette étude indique que la majorité des patients atteints d'une infection nosocomiale ont entre 08 et 75 ans. Ces résultats corroborent les résultats de la littérature qui souligne que l'âge est un facteur de risque infectieux avant un an et après 75 ans, ou cela peut aisément s'expliquer par l'importance de la morbidité chez les patients âgés (**Cruse et Foord, 1980**).

En ce qui concerne les types d'échantillons prélevés, nous avons découvert 197 échantillons de pus (78,8%), 45 échantillons d'urine (18,8%) et 08 échantillons de prélèvements vaginaux (03,2%). 87,18 % des échantillons positifs au SARM provenaient du pus, 8,97 % de l'urine et 3,84 % des échantillons vaginaux. Le risque de type d'échantillon était statistiquement significatif ($p = 0,04$). Il est noté que le pus était le type d'échantillon le plus fréquent chez les patients contaminés par le SARM par rapport aux autres échantillons. Les résultats corroborent ceux de Daoudi (2008), qui rapporte un taux de 77,34%. Le résultat est également influencé par les sites d'échantillonnage. Comme déjà mentionné par plusieurs auteurs, le pus provenait principalement de prélèvements de peau et de parties molles (**Akoua-Koffi et al., 2004 ; Mastouri et al., 2006 ; Benouda et Elhamzaoui, 2009**). Cependant, d'autres études ont montré que les SARM sont beaucoup plus fréquents dans les hémocultures et les urines qu'au niveau des pus (**Belebas et al., 2001 ; Zahlane, 2007 ; Thabet et al., 2013**). Les SARM sont responsables de 78 % des infections cutanées et des tissus mous, et une partie importante ont été impliquée dans les infections urinaires, génitales et la septicémie. Ces résultats concordent avec ceux d'autres chercheurs (**Shittu et Lin, 2006 ; Skiest et al., 2007 ; Srinivasan et al., 2009 ; Biedenbach et al., 2015**). Ces résultats corroborent également les résultats de Mastouri et de ses collègues, qui indiquent que les infections à SARM sont principalement cutanées et qu'une septicémie peut être observée dans les cas graves (**Mastouri et al., 2006 ; Elhamzaoui et al., 2009**).

L'utilisation d'antibiotiques des familles de β -lactamines comme traitement a été plus fréquente en milieu hospitalier (52 %) que pour les autres familles d'antibiotiques. Cela a révélé une différence significative ($p = 0,0001$) entre la propagation de la souche SARM et l'utilisation des β -lactamines. En résumé, la sur-utilisation et la mauvaise utilisation des antibiotiques dans les établissements hospitaliers sont devenues les principaux facteurs contribuant au développement rapide de la résistance chez les bactéries (**Hussain et al., 2008**). Les auteurs ont cité l'antibiothérapie comme facteur de risque d'infection par les SARM dans la littérature (**Daeschlein et al., 2006 ; Al-Rawahi et al., 2007**).

Suite à l'analyse des correspondances factorielles multiples (AFCM), on a pu dire que la population des patients hospitalisés la plus touchée par les souches SARM est la tranche des sujets âgés qui souffrent des maladies infectieuses d'origine cutané, dont la plupart des prélèvements sont des pus issue des abcès, furoncles, pied diabétique ou

plaies surinfectés. Ces sujets ont un apport très important de prendre les antibiotiques de la famille des β -lactamines d'où ils ont acquis le gène de résistance à la méticilline. Et que le facteur sexe n'a aucune corrélation avec la résistance au SARM.

3. Epidémiologie des infections à SARM

Les causes les plus courantes d'un traitement intensif sont des infections cutanées. Les infections superficielles peuvent inclure les cellulites, l'impétigo et les furoncles. Ces maladies infectieuses peuvent être traitées ou bien par une intervention chirurgicale ou par une antibiothérapie simple, qui peut être un antibiotique de la famille des β -lactamines; ce qui explique le taux élevé des patients hospitalisés à SARM. Les infections cutanées compliquées englobent les infections des tissus mous profonds, telles que les ulcères infectés, les brûlures et les abcès majeurs, ou une infection chez un patient avec une maladie sous-jacente significative ; expliquant le taux élevé des prélèvements de pus par rapport aux autres prélèvements qui compliquent la réponse au traitement qui nécessitent souvent une hospitalisation.

S. aureus est la bactérie la plus fréquente et la plus communément identifiée dans les infections cutanées et surtout chez les patients hospitalisés (Moet *et al.*, 2007).

Dans notre étude, les infections cutanées représentent la plupart (78%) des infections à *S. aureus*, suivi des infections urinaires (06%), sachant que les patients souffrant de ces infections sont admis dans les services ; infectieux, médecine homme et médecine femme. Ces atteintes sont réparties entre les infections cutanées compliquées liées au diabète, maladies dermatiques et des complications après interventions chirurgicales. Sachant que le SARM représente 75 % des infections à *S. aureus*, ce taux corrobore avec ce qui a été rapporté dans une étude aux Etats-Unis (Naimi *et al.*, 2003). Ce taux peut être lié à la prévalence élevée des complications des patients immunodéprimés qui souffrent des maladies chroniques telle que le diabète ou de ses séquelles tel que certaines maladies dermatiques comme le pied diabétique.

On a noté aussi que les prélèvements de pus ont été isolés des patients ont eu tout type d'atteintes dermatologiques comme (cellulite, plaie infectée ou une infection du site opératoire). Les souches SARM sont retrouvées essentiellement dans les prélèvements de pus avec un taux de 87.18%, mais pour des études ultérieures ont décrit un taux de SARM plus important dans les ECBU ; au niveau des urines allant de

61 à 64 % par rapport aux hémocultures et les prélèvements de pus (**Mastouri et al., 2005**).

Parmi les bactériémies à Gram positif, la bactériémie à *S. aureus* est l'une des infections les plus répandues et difficiles à traiter. Pour cette étude, la bactériémie constituait environ 14% des infections à *S. aureus* nosocomiales. En effet, plus de 81 000 isolats ont été examinés dans la période de 1997-2002, *S. aureus* était la cause la plus fréquente des bactériémies nosocomiales en Amérique du Nord (26%) et en Amérique latine (21,6%), et la deuxième en Europe (19,5%) (**Biedenbach et al., 2004**).

Selon les données du réseau européen de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques en 2007, notre résultat est comparable à celui de la Belgique et de la Hongrie, soit 23,3%, et inférieur à celui de l'Italie, de l'Angleterre, de la Croatie, de l'Irlande, de la Grèce, de la Chypre et du Portugal, respectivement 33,7%, 35,6%, 37,6%, 38,1%, 48,2% et 48,4%. Les investigations à l'échelle mondiale ont montré une augmentation significative des rapports de bactériémies à SARM chez les enfants surtout dans les dernières décennies. Une étude en Angleterre a constaté une augmentation de la proportion de bactériémies à SARM de 0,9 % en 1990 à 13 % en 2000 (**Cotton et al., 1992**).

Les différences dans le nombre et le site des échantillons microbiologique, la disponibilité des services microbiologiques et la structure des systèmes de surveillance peuvent avoir un impact sur les résultats d'un pays à l'autre.

4. Détermination de la résistance des souches *S. aureus* aux antibiotiques

Dans cette étude, une résistance des *S. aureus* est associée à la céfoxitine, l'amikacine, à l'érythromycine, à l'ofloxacine, à la tétracycline, à la vancomycine, et l'oxacilline, a été retrouvée. Une sensibilité est associée à la gentamicine, à la pristinamycine, chloramphénicol et triméthoprime.

- B- lactamines

La résistance de *S. aureus* à la céfoxitine était de 79,49 % ; cette résistance croisée correspond à des bactéries qui développent une résistance à toute la famille des β -lactamines, par le même mécanisme. Le choix d'utiliser la méthode de dépistage à l'oxacilline pour obtenir 31,20 % ; que l'Oxacilline est le bon marqueur de résistance à la méticilline pour les

staphylocoques; diamètre critique valable pour déterminer la sensibilité/résistance à la molécule mais aussi comme un marqueur de SARM (CASFM, 2020).

De nombreux mécanismes de résistance des staphylocoques à la méticilline mise en jeu, mais le plus courant est la résistance par modification de la cible moléculaire des β -lactamines. La production d'une protéine de liaison aux pénicillines (PLP) supplémentaire, appelée PLP 2a ou PLP 2, qui présente une faible affinité pour les β -lactamines, par contraste avec les quatre PLP (1 à 4) présente naturellement et impliquées dans la biosynthèse du peptidoglycane. Le gène *mec A*, un fragment supplémentaire d'ADN intégré au chromosome des staphylocoques résistants à la méticilline (SARM), est le gène codant la PLP 2a (Hamdad, 2006). Les staphylocoques sont résistants à toutes les β -lactamines grâce à une mutation du PLP (PLP additionnel : PLP2a). Les techniques phénotypiques d'antibiogramme peuvent mal détecter cette résistance car elle peut être hétérogène (CASFM, 2017).

- Aminositides

Concernant les aminosides ; le taux de résistance est enregistré avec l'amikacine de 53.85% alors que la gentamicine 3.85%. Ce taux est nettement inférieur à celui signalé par Alioua (2011) qui a enregistré un taux très élevé de 80,4%. En pratique, le principal mécanisme de résistance de *Staphylococcus spp* aux aminosides est enzymatique (Battard *et al.*, 2005). La gentamicine est l'aminoside le plus souvent actif sur le *S. aureus* et selon la CASFM (2017) et le rapport d'évaluation national 2016 ; les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à l'ensemble des aminosides (sauf streptomycine).

- Erythromycine

Notre taux de résistance à l'érythromycine (51,28 %), en effet, les taux de résistance à l'érythromycine en Algérie sont 45,45% au CHU de Tlemcen (Rebiahi *et al.*, 2011), 44,77% au CHU d'Alger (Antri *et al.*, 2010) et 25% à l'hôpital Didouche Mourad de Constantine (Ouchenane *et al.*, 2010). La résistance à cette molécule chez les *S. aureus* varie d'un pays à un autre allant de 10 % en 2003 au Liban jusqu'à 93.9% aux Etats Unis. (Aqib Saeed *et al.*, 2020).

- Vancomycine

Bien que la vancomycine soit actuellement l'un des traitements les plus efficaces pour traiter les infections à *S. aureus*, son utilisation systématique a conduit à l'émergence de souches de *S. aureus* ayant une sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA), ce qui suscite la crainte de développer un aspect épidémique (**Boukhatem et al., 2015**). Dans cette étude, le taux de résistance à la vancomycine est 52,56 %.

- Fluoroquinolones

La résistance à l'ofloxacine (fluoroquinolones de deuxième génération) est présente chez 23,05 % des cas de *S. aureus*. Ce résultat est supérieur à celui du 16e rapport national d'évaluation de 2015 qui a noté une résistance de 21,34% pour l'ofloxacine et de 17,92% pour la ciprofloxacine. La résistance aux fluoroquinolones est causée par des mutations chromosomiques qui provoquent une modification de la cible affectant l'ADN gyrase (mutations dans les gènes *gyr A*) ou une diminution de la perméabilité causée par une modification des porines. La cible principale chez les bactéries à Gram positif est la topo-isomérase de classe IV, et une mutation de cette cible entraîne l'apparition d'un premier niveau de résistance aux fluoroquinolones (**Mainardi et al., 1996**).

- Tétracycline

Le taux de résistance à la tétracycline était de 67% qui corroborent aux résultats de CHU de Constantine (62%) (**Aouati et al., 2021**), à l'hôpital Ibn Ziri d'Alger (58,3%) (**Basset et al., 2015**), à l'hôpital Didouche Mourad de Constantine (56,25%) (**Ouchenane et al., 2010**). Ces résultats concordent bien avec d'autres études réalisées en Russie (52%) (**Gostev et al., 2017**), et s'éloigne de ceux en Nigeria (47,4%) (**Shittu et al., 2011**) et en Tunisie (39,4%) (**El hani et al., 2015**).

5. Détermination de la résistance des souches SARM aux antibiotiques

Dans la présente étude, un nombre total de 78 SARM ont été caractérisés. Cela correspond à la prévalence de 06,5% parmi 1200 échantillons.

Le SARM isolé à partir d'échantillons hospitaliers a montré une résistance à d'autres familles d'antibiotiques ; la famille des tétracyclines avec un pourcentage de 67 %, la famille des macrolides (érythromycine) avec 32%, et leur conférant une résistance à

certaines aminoglycosides (amikacine et vancomycine) avec respectivement 72 et 81 %. Cependant, les pourcentages de résistance des isolats à la gentamicine, au chloramphénicol et à l'oflaxacine étaient respectivement de 41%, 67% et 12 %. Par contre, on note une sensibilité à 100% à la pristinaamycine et au triméthoprime.

Le profil de résistance aux antibiotiques des isolats de SARM dans cette étude était principalement limité aux antibiotiques testés à la tétracycline, érythromycine, chloramphenicol, gentamicine et aminoglycosides. Ce profil était quelque peu similaire à celui trouvé en Allemagne (**Fessler *et al.*, 2011**).

Tétracycline : Le phénotype de résistance à la tétracycline observé dans cette étude pourrait s'expliquer par la présence des gènes *tet K* et *tet M* (**Zarfel *et al.*, 2013**). Le pourcentage élevé de résistance (67%) ainsi que périlleux si on les compare à ceux obtenus par Azzouzi F. (2018) au Maroc qui est en baisse avec la tétracycline. ce qui s'explique par le développement crieur par cette espèce bactérienne au niveau de leur mécanisme de résistance à la tétracycline.

Aminosides : Selon l'analyse des résultats de la résistance à la gentamicine des SARM en Algérie, son taux est en constante augmentation : il était d'environ 7 % en 2006. Actuellement, il est de 34 %. La croissance est également observée dans les pays voisins, notamment au Maroc, où elle était à 16.4% en 2007 et a atteint 59 % en 2007, avant de revenir à 53 84 % en 2009. La résistance des SARM en Tunisie se stabilise autour de 18 %. Au Liban, la résistance aux SARM aux aminosides était représentée par deux pourcentages relativement éloignés, contrairement à un faible taux (6,25%) vis-à-vis de la gentamicine et de la tobramycine, tandis que Hamze et al. en 2003 ont signalé un pourcentage élevé (90 %) pour l'amikacine et la kanamycine. (**Hamze et al., 2003**) ; ce qui corrobore avec les résultats de cette étude avec 72% pour l'amikacine, mais éloigné du taux de la gentamicine ; qui est de 41%.

Glycopeptides : Le SARM isolé à partir d'échantillons hospitaliers a montré une résistance à la vancomycine avec 81 %. Contrairement à nos résultats. L'augmentation des SARM dans les hôpitaux algériens a favorisé l'intégration des glycopeptides dans les schémas thérapeutiques permettant l'élimination de ces souches, ce qui a entraîné une augmentation du taux de résistance à la vancomycine en raison de son utilisation abusive.

Erythromycine : La résistance à l'érythromycine est répandue parmi les souches résistantes à la méthicilline (32%). Cela peut s'expliquer par une résistance croisée aux macrolides par méthylation de l'ARN ribosomal 23S. (**Nhan *et al.*, 2012**).

L'ofloxacin : Dans la présente étude, un faible pourcentage (12 %) des isolats de SARM a montré une résistance à l'ofloxacin. Ce taux est similaire à ce qui a été rapporté dans l'Afrique du Sud (18%), et éloigné notamment de la Tunisie (41%), le Maroc (60%), et le Nigéria (31%). Il est aussi inférieur si on le compare à celui de l'Inde ou du Pakistan qui ont des taux de résistance supérieur à 90% (**Liu *et al.*, 2009**).

Triméthoprim et pristinamycine : toutes les souches de SARM de cette étude sont sensibles à la triméthoprim et à la pristinamycine, on a noté un pourcentage de sensibilité entre 95 et 98% dans l'étude faite par ONERBA (**ONERBA, 2009**)

Il a été observé que les SARM étaient résistants à deux ou plusieurs antibiotiques par rapport aux SASM, on peut dire qu'il existe une multi-résistance de certaines souches hospitalières isolées (**Arkwright *et al.*, 2002**). La cause la plus importante d'augmentation des phénotypes résistants est le manque de comprendre l'effet de l'automédication et de l'utilisation excessive d'antibiotiques chez les personnes ; l'exemple le plus démonstratif est le mécanisme de résistance inductible vis-à-vis les glycopeptides (**pajot, 2007**). Des différences dans les résultats de diverses études existent en raison de divers types de souches dans des zones spécifiques, des plans de contrôle des infections dans les hôpitaux et d'autres méthodes adoptées pour limiter l'utilisation d'antibiotiques abusives sont nécessaires (**Aqib Saeed *et al.*, 2020**).

6. Profil de résistance des SARM

Toutes les souches isolées présentent une multirésistance (Tab. 16), ce qui pose un problème de prise en charge efficace et retarde l'éradication de ces infections. Par conséquent, les SARM méritent une attention particulière. Les profils de résistance ERY, TET, AMK, CLO et OFL ; KAN, ERY, TET, AMK, OFL et ERY, AMK, OFL et GEN sont dominants chez les souches SARM trouvées dans divers milieux hospitaliers. Ces profils semblent également être courants dans les services infectieux, la médecine féminine et la médecine masculine. Les souches SARM présentes présentent une résistance multivalente à presque tous les antibiotiques testés, telles que ERY, TET,

AMK, CLO, OFL et VAN. Les autres profils sont peu importants et sont sporadiques. Cette distribution aussi inégale entre les différents services reflète l'existence d'un minimum de facteurs favorisant la sélection de SARM selon le type d'activité hospitalière. Cet effet nécessite une étude génétique pour déterminer la clonalité des souches SARM distinctes.

7. Recherche du gène mec A par PCR

La détermination de la résistance à la méticilline dans cette étude a commencé par la détection de la résistance des souches à la céfoxitine et à l'oxacilline, qui a ensuite été confirmée par des tests de screening à l'oxacilline. Enfin, un gène mec A par PCR a été préconisé pour quelques souches de SARM qui avaient été identifiées phénotypiquement par un manque de moyens pour faire l'identification moléculaire pour la totalité des souches identifiées comme SARM.

La résistance par acquisition du gène mec A est plus grave d'un point de vue épidémiologique car ce gène est porté par un élément génétique mobile pouvant non seulement favoriser la dissémination de la résistance à la méticilline mais aussi transporter d'autres gènes codant pour la résistance à d'autres antibiotiques (**Ito *et al.*, 2001**).

Par conséquent, la détection génotypique du gène mec A est devenue le test référence pour la confirmation de la résistance à la méticilline (**Hamdad *et al.*, 2006**). Les recommandations en matière de détection moléculaire de résistances importantes chez les *S. aureus* sont établies par CA-SFM 2018, qui note que la détection génotypique des gènes mec A par PCR doit être entreprise.

Cette étude présente le profil de résistance de *S. aureus* en Algérie, qui pourrait aider les médecins à traiter les infections causées par cette maladie. De plus, si l'identification moléculaire était utilisée sur toutes les souches isolées, la caractérisation moléculaire aurait pu fournir de meilleures informations sur le facteur de virulence associé à la résistance. Pour prescrire des antibiotiques, les médecins doivent respecter les protocoles suivants :

- Minimiser les antibiotiques non indiqués cliniquement (comme lors d'une grippe virale par exemple).

- Le traitement antibiotique doit être effectué plus de 06 jours pour éviter l'antibiorésistance.
- Avant de prescrire des antibiotiques, il est possible de réaliser des antibiogrammes afin de concevoir une stratégie potentiellement efficace pour prévenir l'émergence de multi-résistance.
- Utiliser des protocoles d'hygiène efficaces pour lutter contre les infections
- Pour réduire la contagiosité de ces pathogènes, il est impératif de reconnaître les patients infectés surtout par les bactéries multi résistantes, et en particulier de l'isoler des collectivités.
- Accepter de changer de comportement, suivre les conseils des experts et créer un protocole réfléchi (**Gruson et al., 2002**).

Discussion Générale

Cette étude montre que *S. aureus* se propage dans les hôpitaux et que les SARM sont courants dans les hôpitaux de la wilaya de Tébessa. Une première étude portant sur 250 souches de *Staphylococcus aureus* isolées de 1200 prélèvements provenant de différents établissements de santé publique et hospitalière de la région de Tébessa avait déjà montré un pourcentage de SARM élevé à 30,20 %.

En Algérie, la première étude menée dans la wilaya de Tébessa s'est concentrée uniquement sur la présence des SARM nosocomiales. Les infections à SARM nosocomiales sont devenues un problème de santé publique dans certains pays du monde où elles sont bien documentées. Les SARM hospitaliers sont plus courants dans notre série que les SARM trouvés en France, avec une fréquence de 4 à 11 %. (**Lorette et al., 2003**). Cependant, ces taux sont inférieurs à ceux aux États-Unis, où ils s'élèvent de 59 % à 76 %. (**Moran et al., 2006**). À cause du nombre élevé d'isolats identifiés par les critères phénotypiques, nous n'avons pas pu terminer notre étude en utilisant les tests de biologie moléculaire pour trouver le gène mec A pour toutes les souches SARM.

Les SARM sont reconnus pour leur résistance à d'autres antibiotiques (les antibiotiques testés sont les antibiotiques les plus courants en Algérie). La résistance aux

autres antibiotiques des SARM varie considérablement. Une forte résistance à la plupart des antibiotiques caractérise nos souches ; seuls les glycopeptides et la gentamicine restent actifs. La présence de certaines molécules encore actives sur les SARM telles que les streptogramines, les oxazolidinones ou encore les glycylicyclines (tigécycline), les lipopeptides (daptomycine) ne sont pas disponibles sur le marché algérien, ce qui pourrait expliquer cette résistance. **(Benouda et Elhamzaoui, 2009)**.

Il n'y a pas de produits actifs disponibles, les cliniciens finissent par utiliser la ciprofloxacine et la gentamicine pour lutter contre la *S. aureus*. Cela entraînerait une résistance à ces antibiotiques.

La présente étude a montré que les SARM sont largement présents dans l'est algérien. L'acquisition de SARM a été significativement corrélée à tous les facteurs de risque. L'infection aux SARM affecte principalement les personnes âgées qui souffrent de maladies infectieuses liées ou non à des maladies chroniques et qui ont un usage abusif des β -lactamines. L'analyse statistique des données trouvées par l'AFCM le prouve. L'efficacité thérapeutique in vitro a révélé que le triméthoprim-sulfaméthoxazole, l'oflaxacine, le chloramphénicol, la pristnamycine et la gentamicine étaient très efficaces contre les souches de SARM isolées.

L'utilisation des antibiotiques sur les bactéries commensales, favorise le choix d'espèces naturellement résistantes, ce qui entraîne facilement des surinfections et des substitutions de flore. Un échec thérapeutique peut également résulter d'un antibiotique de faible pouvoir bactéricide, d'une charge microbienne supérieure à la CMI ou même d'un antagonisme entre antibiotiques. Certaines souches bactériennes, appelées persistantes ou quiescentes, qui ont un métabolisme extrêmement ralenti, peuvent survivre dans des endroits peu accessibles aux antibiotiques pendant de très longues périodes. Cela les rend insensibles aux antibiotiques qui ne sont actifs que sur les métabolismes. En effet, ils sont susceptibles de contracter des infections spécifiques, des germes opportunistes et/ou des infections difficiles à traiter. Il convient de rappeler que les antibiotiques n'ont généralement qu'un rôle d'assistance en réduisant l'inoculum bactérien, permettant aux défenses de l'hôte d'éradiquer les pathogènes en cause. La surveillance de l'infection nosocomiale est également liée à la charge de travail, au type et à la gravité des maladies, à la consommation d'antibiotiques et à la résistance bactérienne. Les organisations

doivent s'améliorer en matière de lutte contre les infections nosocomiales et mettre en œuvre des mesures qui répondent aux priorités nationales et locales.

Une excellente alternative thérapeutique devant le phénomène de la résistance, c'est l'utilisation d'association entre des antibiotiques permettant à la fois la prévention de l'émergence de résistances et l'élargissement du spectre d'action qui peut atteindre des foyers polymicrobiens profonds. Certaines études de plusieurs associations testées montrent que sur six combinaisons d'antibiotiques différentes, deux se sont distinguées par un effet synergique : la vancomycine avec l'imipénème et la vancomycine avec la gentamicine, cette dernière étant la plus efficace. À l'exception de l'imipénème additionné à la vancomycine, toutes les associations combinant une β -lactamine à la vancomycine ont exprimé un effet synergique.

Toutes les actions visant à combattre et à prévenir ces infections doivent être basées sur le recueil et l'analyse des données épidémiologiques pour garantir une meilleure efficacité. La sensibilisation de tous les acteurs en milieu hospitalier aux risques et aux effets de l'infection nosocomiale est essentielle à l'efficacité de l'établissement.

Il est essentiel de respecter certaines mesures pour éviter ces infections.

-Une prise de conscience de l'autorité sanitaire et du personnel soignant du risque causé par ces résistances.

Dans des conditions critiques, l'utilisation rationnelle des antibiotiques devrait être basée sur une lecture interprétative de l'antibiogramme et le choix thérapeutique devrait être basé sur des données de sensibilité spécifiques à chaque service.

Le premier moyen de protection reste le lavage des mains. Il est important que ce geste soit aussi efficace que redondant en utilisant des solutions hydro-alcooliques avant et après chaque traitement sur un même patient. Cela pou

Cette étude démontre que *S. aureus* se propage dans les milieux hospitaliers et que les SARM sont fréquents dans différents hôpitaux de la wilaya de Tébessa. Une première étude portant sur 250 souches de *Staphylococcus aureus* isolées de 1200 prélèvements provenant de divers établissements de santé public et établissements

hospitaliers de la région de Tébessa avait déjà montré un pourcentage élevé de SARM à 30,20 %.

La première étude menée en Algérie dans la région de Tébessa se concentre exclusivement sur la présence des SARM nosocomiales. Dans certains pays du monde où elles sont bien documentées, les infections à SARM nosocomiales sont devenues un problème de santé publique. Dans notre série, il y a une fréquence élevée de SARM hospitaliers par rapport aux SARM trouvés dans les séries françaises, qui se situent entre 4 et 11 % (**Lorette et al., 2003**). Cependant, ces taux sont inférieurs à ceux observés aux États-Unis, où ils varient de 59 % à 76 % (**Moran et al., 2006**). Pour des raisons techniques, nous n'avons pas pu compléter notre étude par les tests de biologie moléculaire à la recherche du gène de résistance à la pénicilline ; gène *mecA* pour toutes les souches SARM à cause du nombre élevés des isolats identifiés par les critères phénotypiques.

Les SARM sont réputés par leurs résistances vis-à-vis d'autres antibiotiques (les antibiotiques testés sont les plus utilisés au milieu hospitalier en Algérie). Le profil des résistances aux autres antibiotiques des SARM est très variable. Nos souches sont caractérisées par une forte résistance à la majorité des antibiotiques ; seuls les glycopeptides et la gentamicine restent constamment actifs.

Ce profil de résistance serait lié à la non disponibilité, sur le marché Algérien, de certaines molécules encore actives sur les SARM comme les streptogramines, les oxazolidinones ou encore les glycylicyclines (tigécycline), les lipopeptides (daptomycine) (**Benouda et Elhamzaoui, 2009**). Manquant de produits actifs, les cliniciens finissent par choisir ce qui est disponible pour lutter contre les *S. aureus* : ciprofloxacine, gentamicine. Ceci conduirait à l'explosion de la résistance à ces antibiotiques

La présente étude a révélé une forte prévalence de SARM dans l'est Algérien. Tous les facteurs de risque ont montré une association significative dans l'acquisition de SARM. Les sujets âgés qui souffrent des maladies infectieuses liées ou non à des maladies chroniques et qui ont un usage abusif de prise des β -lactamines sont les plus touchés par l'infection à SARM. Ceci est prouvé par l'analyse statistique des données trouvées par l'AFCM. L'efficacité thérapeutique *in vitro* a indiqué que le triméthoprime-sulfaméthoxazole, l'oflaxacine, le chloramphénicol, la pristinaamycine et la gentamicine étaient très efficaces contre les souches de SARM isolées.

Certaines bactéries dites persistantes ou quiescentes, bactéries avec un métabolisme extrêmement ralenti, peuvent survivre pendant de très longues périodes dans des sites peu accessibles aux antibiotiques. Ceci les rend insensibles à la plupart des antibiotiques qui n'agissent que sur les métabolismes actifs. Les hôtes immunodéprimés sont, à plusieurs titres, des candidats à l'échec thérapeutique. En effet, ils sont susceptibles de développer des infections particulières, à germes opportunistes et/ou à traitement difficile. Il convient de rappeler que le plus souvent les antibiotiques n'ont qu'un rôle d'appui, en diminuant l'inoculum bactérien, permettant aux défenses de l'hôte d'éradiquer des pathogènes en cause. La surveillance de l'infection nosocomiale, c'est aussi sa relation avec la charge de travail, le type et la gravité des maladies, la consommation d'antibiotiques et la résistance bactérienne. Les organisations doivent être améliorées de la lutte contre les infections nosocomiales et mener des actions adaptées aux priorités nationales et locales.

La synergie entre plusieurs familles d'antibiotiques est une excellente voie thérapeutique, à la fois pour la prévention de l'émergence des résistances et l'élargissement du spectre d'action qui peut atteindre des foyers polymicrobiens profonds. Quelques résultats des différentes associations testées ; montrent que sur six combinaisons d'antibiotiques différentes, deux associations se sont distinguées par un effet synergique: la vancomycine additionnée à l'imipénème, et la vancomycine avec la gentamicine, cette dernière a été la plus efficace, à l'exception de l'imipénème additionné à la vancomycine, toutes les associations combinant une β -lactamine à la vancomycine ont exprimé un effet d'antagonisme ; cette inefficacité a également touché l'association de la gentamycine avec l'imipénème.

Le relevé de ces infections et l'analyse des données épidémiologiques devraient être à la base de toute action de lutte et de prévention en assurant une meilleure efficacité. Cette efficacité est largement tributaire de la sensibilisation de l'ensemble des acteurs en milieu hospitalier aux risques et aux conséquences de l'infection nosocomiale.

Pour se protéger contre des éventuels infections, il faut respecter certaines mesures :

-Une Prise de conscience pour les praticiens cliniciens associe pour chaque risque répertorié à des mesures de prévention, en fonction de leur gravité potentielle et de leur probabilité de survenue

CHAPITRE V : Résultats et Discussion

- la formation et la sensibilisation qui doivent inciter par les épidémiologistes pour des programmes de prévention.

- l'isolement des patients à risque dès l'entrée dans un service infectieux à haut risque pour minimiser le risque d'émergence des bactéries nosocomiales.

-l'hygiène de lavage des mains consiste la premier geste de prévention qui doit être efficace en savonnant, frottant, rinçons et séchons les mains avant et après chaque soin.

- En perspectives de ce travail, il serait intéressant l'exploration des mécanismes intervenant dans la régulation des facteurs de virulence et les autres gènes de résistance.

Conclusion



Conclusion

La propagation de la *S. aureus* est un risque crucial pour la santé humaine à travers le monde, ainsi que l'émergence de la multi résistance chez ces bactéries, ce qui a compliqué l'état des patients hospitalisés et limité les choix thérapeutiques. La majorité des infections nosocomiales rencontrées sont principalement d'origine bactérienne, plus précisément staphylococcique, avec le *S. aureus* comme espèce la plus courante.

Cette étude a mené l'objectif d'évaluer la prévalence, d'identifier les SARM isolées de différents milieux hospitaliers et d'étudier leur résistance aux antibiotiques par rapport à différentes familles d'antibiotiques.

Nous avons découvert que la prévalence des SARM est de **31,2** % selon l'analyse des résultats de nos souches. L'étude a révélé que les facteurs de risque sont **l'âge** ; les personnes âgées sont les plus touchées par les SARM par rapport aux différentes tranches d'âge étudiées, **la nature du prélèvement** ; le pus est le plus dominant ; et l'utilisation des β -lactamines par les patients est un facteur liée à l'infection par les SARM. D'autre part, il n'y a aucune corrélation entre la présence de SARM et le sexe des patients hospitalisés. En comparant avec des recherches antérieures, il est évident que l'installation du SARM en ville en Algérie est préoccupante. Pour lutter contre les épidémies de germes multi résistants, il est impératif de contrôler la diffusion de ces souches.

Le SARM isolé d'échantillons hospitaliers a révélé une résistance à d'autres familles d'antibiotiques ; la famille des tétracyclines a enregistré un pourcentage de 79,49 %, la famille des macrolides (érythromycine) a enregistré un pourcentage de 51,28 % et la famille des aminoglycosides (amikacine et vancomycine) a enregistré une résistance de 53,85 % et 52,56 %, respectivement. Il y a également une résistance intermédiaire pour les tétracyclines (Tétracycline), les aminosides (Kanamycine), et les glycopeptides (Vancomycine) et enfin une résistance faible est notée aux quinolones (Ofloxacin). Cette étude montre une apparition de phénomène de multi résistance dans notre wilaya pour cette bactérie pathogène. L'étude montre l'apparition des souches de sensibilité diminuée, ce qui nécessite une surveillance régulière de l'évolution de la résistance des SARM aux antibiotiques.

Conclusion

Le pathogène *S. aureus* a un fort pouvoir d'adaptation qui lui permet de survivre grâce à l'acquisition successive de gènes de résistance aux antibiotiques, de mécanismes de régulation de la croissance en présence d'antibiotiques et de facteurs spécifiques de virulence. À ce jour, certains de ces aspects semblent complexes et leur complexité n'est pas résolue. Il est nécessaire que les cliniciens et les microbiologistes soient vigilants pour signaler les nouveaux phénomènes épidémiologiques et s'assurer que les consignes de prévention et l'utilisation judicieuse des antibiotiques sont respectées en milieu hospitalier et dans la communauté.

De plus, On a observé une corrélation positive entre les différentes familles d'antibiotiques. Cette étude démontre que le phénomène "acquisition de SARM" n'est pas lié à la pression de sélection d'antibiotique et souligne l'importance d'améliorer les prescriptions.

Les résultats de résistance aux SARM ont été utilisés pour évaluer l'association potentielle entre divers facteurs : le sexe, l'âge, le type de prélèvement et l'utilisation d'antibiotiques de la famille des β -lactamines. D'après l'analyse, la résistance au SARM ne présente aucun facteur de risque liée au sexe, tandis que le facteur âge était significativement associé à une prévalence élevée chez les sujets âgés. La majorité des prélèvements de l'étude (87,18 %) étaient des pus d'origine cutanée; on a constaté que ce facteur était associé à l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques de la famille des β -lactamines. La relation entre la prévalence de divers facteurs de risque et l'apparition de bactéries SARM est décrite dans ce travail.

Nous soulignons trois conclusions majeures de cette étude. Premièrement, la plupart des SARM circulant dans le milieu hospitalier dans la wilaya de Tébessa étaient des souches contenant des résistances aux autres familles des antibiotiques, suggérant la possibilité de facteurs favorisant une forte colonisation nosocomiale de *Staphylococcus* multi résistants chez les patients surtout immunodéprimés qui nécessitent des investigations plus approfondies. Deuxièmement, nous enregistrons une importance prévalence de MDR pour la plupart des antibiotiques actuellement utilisés en clinique pour le traitement des infections staphylococciques. Enfin, les facteurs âge, type de prélèvement et l'usage des β -lactamines ont été les principaux contributeurs à l'acquisition de souches de bactéries multirésistantes, tandis que le facteur sexe dans cette

Conclusion

étude n'a pas eu d'impact significatif sur l'acquisition de souches bactériennes résistantes dans la population étudiés.

Ces résultats fournissent une base pour intégrer les études sociales sur la résistance aux antimicrobiens dans le milieu hospitalier afin de comprendre les facteurs épidémiologiques influençant l'acquisition de la résistance aux antimicrobiens dans la wilaya de Tébessa. L'étude donne également un aperçu de la présence de souches de *Staphylococcus* mec A résistantes à la méticilline, jetant les bases d'une enquête plus approfondie sur les mécanismes moléculaires de la résistance observée ainsi que du renforcement des efforts visant à atténuer la résistance aux antimicrobiens aux échelles nationale. Cela facilitera l'élaboration de stratégies appropriées pour la résistance aux antimicrobiens.

Nos résultats sont encore provisoires et nécessitent d'être exploités et complétés. Pour cette raison, nos perspectives sont les suivantes :

- Elargir la population étudiée pour plusieurs années d'enquêtes épidémiologiques pour décrire une plus grande prévalence des infections aux SARM communautaires et nosocomiales.

- Pour identifier les gènes de virulence, tels que les gènes codant la synthèse des toxines et des enzymes, il est nécessaire d'utiliser des méthodes moléculaires.

- Des études sont également nécessaires pour réduire le risque contagieux de ce germe, y compris la transmission et les moyens de prévenir la propagation des infections à Staphylocoques.

Références

Bibliographiques



-A-

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 : Immunologie et Maladies infectieuses. Toulouse : Université Paul Sabatier Toulouse III, 212p.

Ade T. I., Osiyemi J. A., Aso R. E., Akinduti P. A. and Sunmola N.O. 2022. Prevalence of MLSB resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin. Exper. Microbiol.* 23 (2): 168 -173.

Akoua-Koffi C., Guessennd N., Gbonon V., Faye-Ketté H. and Dosso M. 2004. Methicillin-resistance of *Staphylococcus aureus* in Abidjan (1998–2001): a new hospital problem. *Med Mal.* 34:132–136.

Aleksandra Baran, Aleksandra Kwiatkowska and Leszek Potocki. 2023. Antibiotics and Bacterial Resistance- A Short Story of an Endless Arms Race. *International journal of molecular sciences.* 24:57-77.

Alioua. 2015. Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse du doctorat : Médecine. Algérie : Université Annaba, 223p

Amorim M.L., Aires de Sousa M., Santos Sanchez I., Sa-Leao R., Cabeda J.M., Amorim J.M. and de Lencastre H. 2002. Clonal and antibiotic resistance profiles of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from a Portuguese hospital over time. *Microbial Drug Resistance.* 8:301-308.

Antri K., Rouzic N., Dauwalder O., Boubekri I., Bes M. and Lina G. 2011. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone ST80-IV in hospital and community settings in Algiers. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 17:526-532.

Aouati H. 2009. Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire de

magister : Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Constantine: Université Mentouri Constantine, 94p.

Aqib Saeed, Fatima Ahsan, Muhammad Nawaz, Khadeja Iqbal and Kashif Ur Rehman. 2020. Incidence of vancomycin resistant phenotype of the methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a tertiary care hospital in Lahore. *Antibiotics*. 9:3-11.

Archer G.L. and Bosilevae J.M. 2001. Signaling antibiotic resistance in staphylococci. *Science journal*. 291: 1915- 1916.

Arkwright P.D., Daniel T.O., Sanyal D., David T.J. and Patel L. 2002. Age-related prevalence and antibiotic resistance of pathogenic staphylococci and streptococci in children with infected atopic dermatitis at asingle-specialty center. *Dermatology Journal*. 138: 939-941.

Avril J.L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H. 2003. Bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ellipses, Paris. 8- 28.

Azmoun S. 2016. Epidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques au chu de Marrakech. Thèse du doctorat : Médecine. Marrakech : Université Cadi Ayad, 36p.

Azzouzi F. 2018. Prévalence du portage nasal du *Staphylocoque aureus* Méti-R Communautaire chez les enfants en consultation externe du Centre Hospitalier Universitaire Mohamed VI. Thèse de Doctorat en médecine : Médecine. Marrakech. Morocco. p132.

-B-

Bader S.M. 2006. *Staphylococcus aureus* Bacteremia in Older Adults: Predictors of 7-Day Mortality and Infection with a Methicillin-Resistant Strain. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol*. 27:1219-1225.

Bahareh Hajikhani, Mehdi Goudarzi, Sareh Kakavandi, Sana Amini, Samira Zamani, Alex van Belkum, Hossein Goudarzi and Masoud Dadashi. 2021. The global prevalence of fusidic acid resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*: A

systematic review and meta-analysis. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 10:75-84.

Barbier. 2015. Staphylocoques à coagulase négative : quand, comment et pourquoi sont-ils responsables d'infections ? *Journal Des Anti-Infectieux*. 17:15-19.

Batard É., El Kouri D., Potel G. 2007. Infections à Staphylocoques : Aspects cliniques et bactériologiques. *Maladies Infectieuses*. 4(3):1-8.

BenNejma M., Mastouri M., BelHadj Jrad, B. and Nour M. 2013. Characterization of ST80 PantonValentine leukocidin-positive community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in Tunisia. *Diagnostic Microbiol Infection Diseases*. 77: 20-24.

Benouda A. et Elhamzaoui S. 2009. *Staphylococcus aureus* : Epidémiologie et prévalence des souches résistantes à la méthicilline (SARM) au Maroc. *Rev. Tun. Infectiol*. 3: 15-20.

Bernardo K., Pakulat N., Macht M., Krut O., Seifert H., Fleer S. et al. 2002. Identification and discrimination of *Staphylococcus aureus* strains using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *Proteomics*. 2:747-753. doi:[10.1002/1615-9861\(200206\)2:63.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1615-9861(200206)2:63.0.CO;2-V).

Bernier L.J. 2015. Prévalence et caractérisation de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline d'origine aviaire au Québec. Mémoire de Master : Microbiologie. Montréal : Université de Montréal, 112p.

Biedenbach D.J., Moet G.J. and Jones R.N. 2004. Occurrence and antimicrobial resistance pattern comparisons among bloodstream infection isolates from the SENTRY: Antimicrobial Surveillance Program (1997-2002). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 50:59–69. doi:[10.1016/j.diagmicrobio.2004.05.003](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2004.05.003)

Bismuth R. et Leclercq R. 2000. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques, in Précis de Bactériologie clinique. Ed ESKA; P 611-616.

Bonilla H., Huband M. D., Seidel J., Schmidt H., Lescoe M., McCurdy S. P. and Quinn J. P. 2010. Multicity Outbreak of Linezolid-Resistant *Staphylococcus epidermidis*

Associated with Clonal Spread of acfr-Containing Strain. *Clinical Infectious Diseases*. 51(7): 796-900.

Breche P., Gaillard J. et Simonet M. 1988. Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine Sciences, Paris. 267- 277.

BRUN Y. et BES M. 2000. *Staphylococcus*. In: FRENEY J., HANSEN W. et BOLLET C. eds. Précis de bactériologie clinique. Paris : Eska; 781-819.

BUU-HOI A. 1985. Cocci à Gram positif et macrolides-lincosamides-streptogramines. In : COURVALIN P., GOLDSTEIN F., PHILIPPON A. et SIROT J., eds. L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom ; 41-48.

-C-

CA-SFM / EUCAST. 2020. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Wayne. p181.

Catarina Morais, Sofia Santos Costa, Marta Leal, Bárbara Ramos, Mariana Andrade, Carolina Ferreira, Constança Pomba and Isabel Couto. 2023. Genetic diversity and antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus pseudo intermedius* associated with skin and soft-tissue infections in companion animals in Lisbon, Portugal; *Front. Microbiol.* 14.

Célia Leão, Lurdes Clemente, Maria Cara d'Anjo, Teresa Albuquerque and Ana Amaro Ana Amaro. 2022. Emergence of Cfr-Mediated Linezolid Resistance among Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) from Healthy Pigs in Portugal. *Antibiotics*. 11(10): 1439-1449.

Chadi D., Bezille Z. and Arcangioli M.A. 2016. PCR and PCR-RFLP genotyping of *Staphylococcus aureus* coagulase gene: Convenience compared to pulse-field gel electrophoresis. *Comparative Clinical Pathology*. 25:1061-1064.

Chadli L., Hicham Chemsî Y., Moutaouakkil M. and Sekhsokh Y. 2014. Dépistage du portage nasal de *Staphylococcus aureus* lors de l'admission des patients à l'hôpital

militaire d'instruction Mohammed V Rabat. *Journal Marocain des Sciences Médicales*. 19: 3-21.

Chavakis T., Wiechmann K., Preissner K.T. and Herrmann M. 2005. “*Staphylococcus aureus*” interactions with the endothelium: The role of bacterial “secreted expanded repertoire adhesive molecules” (SERAM) in disturbing host defense systems». *Thrombosis and Haemostasis*. 94: 278-285.

Chua K.Y., Howden B.P., Jiang J.H., Stinear T. and Peleg A.Y. 2014. Population genetics and the evolution of virulence in *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 21: 554-562.

Cotton M.F., Burger P.J. and Bodenstein W.J. 1992. Bacteraemia in children in the south-western Cape. A hospital-based survey. *South. Afr. Med. J.* 81:87-90.

Couture, B. 1990. Bactériologie médicale «Etude et méthodes d'identification des bactéries aérobies et facultatives d'intérêt médical». Vigot, Paris. 15- 32.

Crombe, F. et al. 2013. Transmission Dynamics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Pigs. *Frontiers in Microbiology*. 4: 57- 61.

-D-

Dandan Wu, Haiping Wang, Feiteng Zhu, Shengnan Jiang, Lu Sun, Feng Zhao, Yunsong Yu, Yan Chen. 2020. Characterization of an ST5-SCCmecII-t311 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain with a wide spread cfr-positive plasmid. *J. Infect. Chemother* ; 26: 699-705.

Daoudi, N. 2008. Prévalence et antibiorésistance du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline. Thèse de Doctorat, Rabat, Maroc, Volume 132: 50-88.

Da Silva A.C., Rodrigues M.X. and Cirone Silva N.C. 2020. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food and the prevalence in Brazil: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 51(1): 347-356.

David P. Kateete, Cyrus N. Kimani, Fred A. Katabazi, Alfred Okeng, Moses S. Okee, Ann Nanteza, Moses L. Joloba and Florence C. Najjuka. 2010. Identification

of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 9:23

Davido B. 2018. Comparison of six generic vancomycin products for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis in Rabbits. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 121: 160-136.

De Boe E. et al. 2009. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *International Journal of Food Microbiology*. 134: 52-56.

De Lencastre H., Severina E., Milch H., Konkoly T. and Tomas A. 1997. Wide geographic distribution of a unique methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in Hungarian hospitals. *Clin. Microbiol. Infect.* 3: 289-296.

DeLeo F.R., Otto M., Kreiswirth B.N. and Chambers H.F. 2010. Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 375: 1557-1568.

Delpech M. 2000. [DNA chips]. *Ann. Biol. Clin.* 58: 29-38.

Dennis F., Marie-cécile P., Christian M., Edouard B. et Roland Q. 2010. Bactériologie médicale. *Masson*: 126, 256.

Descy J., Meex C., Melin P., Hayette M.P., Huynen P. and De Mol P. 2020. MALDI-TOF mass spectrometry in clinical bacteriology or how to identify a bacteria within one minute. *Rev. Médicale Liège*. 65: 29-34.

Desenclos J.C. 1996. Epidémiologie des risques toxiques et infectieux liés à la consommation de coquillages. *Rev. Epidém. Santé Publ.* 44: 437-454.

Dufour P., Gillet Y., Bes M., Lina G., Vandenesch F., Floret D., Etienne G. and Richet H. 2002. Community-acquired methicillin-resistant *S. aureus* infections in France: Emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clinical Infectious Diseases*. 35: 819-824.

Dumitrescu O., Dauwalder O., Boisset S., Reverdy M. É., Tristan A. et Vandenesch F. 2010. Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine sciences*. 26 (11): 943-949.

-E-

EARSS. 2008. European Antimicrobial Resistance Surveillance System database.

Edidah Ong'era, John Kagira, Naomi Maina, Daniel Kiboi, Kenneth Waititu, Lynda Michira and Maina Ngotho. 2023. Prevalence and Potential Risk Factors for the Acquisition of Antibiotic-Resistant *Staphylococcus* spp. Bacteria Among Pastoralist Farmers in Kajiado Central Subcounty, Kenya. *BioMed Research International*. 35-48.

Ekkelenkamp M.B. et al. 2006. Endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* originating from pigs. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskund*. 150(44): 2442-2447.

Elhamzaoui S., Benouda A., Allali F., Abouqual R. and Elouennass M. 2009. Epidemiology and Prevalence of methicillin resistant strains in Morocco. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*. 3: 15 - 20.

Enright M.C., Day N.P.J., Davies C.E., Peacock S.J. and Spratt B.G.2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus* multilocus sequence typing for characterization of methicillin- resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus*. *J. Clin. Microbiol*. 38: 1008-1015.

Erkihun Aklilu and Hui Ying Chia. 2020. First mec C and mec A Positive Livestock Associated Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (mecC MRSA/LA-MRSA) from Dairy Cattle in Malaysia. *Microorganisms*. 8(2) : 147.

-F-

Fauchere J.L. et Avril J.L. 2002. Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. 213- 217

Felten A., Grandy B., Lagrange P.H. and Casin I. 2002. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA): A disk diffusion method with cefoxitin and moxalactam, the Vitek 2 System, and the MRSA-screen latex agglutination-test. *Clinical journal of Microbiology*. 40: 2766-2771.

Fessler A.T., Kristina Kadlec, Melanie Hassel, Tomasz Hauschild, Christopher Eidam, Ralf Ehricht Stefan, Monecke and Stefan Schwarz. 2011. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. *Applied and Environmental Microbiology*. 77(20): 7151-7157.

Ficca G., Chauvel M. and De Moüy D. 2006. Prevalence of community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Médecine et maladies infectieuses*. 36: 207-212.

Fitzgerald J.R., Sturdevant D.E., Mackie S.M., Gill S.R. and Musser J.M. 2001. Evolutionary genomics of *Staphylococcus aureus*: insights into the origin of methicillin-resistant strains and the toxic shock syndrome epidemic. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 98: 8821- 8826.

Fluit A.C. 2012. Lives tock-associated *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Infect*. 18(8):735-744.

Forestier E., Rémy V., Mohseni-Zadeh M., Lesens O., Jauhlac B., Christmann D. et Hansmann Y. 2007. Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : aspects épidémiologiques et thérapeutiques récents. *Rev. Med. Intern*. 28: 746-755.

Foster T. 1996. *Staphylococcus*. In: Baron S., Editor. *Med. Microbiol*. 4th ed., Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston.

Foster T.J. and Geoghegan J. A. 2015. *Staphylococcus aureus*. *Molecular Medical Microbiology*. 655–674.

Foster TJ. 2019. Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*. 6: 484-488.

Freney J. 2007. Précis de bactériologie clinique. Paris: Éd. Eska.

Fridkin S.K., Hageman J.C., Morrisson M., Sanza L.T., Como-sabtti K., Jernigan J.A., Harriman K., Harrison L.H., Lynfield R. and Farley M.M. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *New England Journal of Medicine*. 352: 1436-1444.

Garau J., Ostermann H., Medina J., Ávila M., McBride K. and Blasi F. 2013. Current management of patients hospitalized with complicated skin and soft tissue infections across Europe (2010–2011): Assessment of clinical practice patterns and real-life effectiveness of antibiotics from the REACH study. *Clinical Microbiology and Infection*. 19:377-385.

Garrity G.M., Johnson K.L., Bell J. and Searles D.B. 2002. Bergy's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. Springer- verlag, New York.

Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. and Tindall B.J. 2007. Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release. March 6, 2007” Part 9- the Bacteria: Phylum” Firmicutes”: Class “Bacilli”.

Gaudy C. et Buxeraud J. 2005. Antibiotiques pharmacologie et thérapeutiques, Elsevier SAS, P: 21-22.

Gillet Y., Vanhems P., Lina G., Bes M., Vandenesch F., Floret D. et al. 2007. Factors predicting mortality in necrotizing community acquired pneumonia caused by *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin. *Clin. Infect. Dis.* 45(3): 315-321

Girard-Blanc C. et Courvalin P. 2005. Evaluation of non-automated techniques for phenotypic detection of VanA-type *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 24: 562–565

Goran Abdurrahman, Frieder Schmiedeke, Claus Bachert, Barbara M. Bröker and Silva Holtfreter. 2020. Allergy-A New Role for T Cell Superantigens of *Staphylococcus aureus*?. *Toxins* .MDPI.12: 176-198.

Gras D. 2006. Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidique et *Staphylococcus aureus*. thèse de doctorat: Université de REIMS Champagne Ardenne U.F.R. de médecine. 185p.

Grohs P. 2009. Évolution de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques : la méticilline est-elle encore un marqueur de multirésistance ? *Pathologie Biologie.* 57: 1-8.

Gruson D., Hilbert G., Vargas F., Valentino R., Cardinaud J.P. et Gbikpi-Benissan, G. 2002. Impact des nouvelles stratégies d'utilisation des antibiotiques en réanimation
Réanimation; 11: 200-208.

-H-

Haysom L., Cross M., Anastasas R., Moore E. and Hampton S. 2018. Prevalence and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in custodial populations: A systematic review. *Correctional Health Care*. 24:197–213.

Huang Yhu-Chering and Chih-Jung Chen. 2015. Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during the first 2 years of life in children in Northern Taiwan. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 34: 2-36.

Hussain K., Ijaz S.H., Farooqi B., Rizvi S., Nayab A., Ali A., Ghaffar A.I., Aqib M. K. and Iqbal. 2018. Molecular characterization of *Clostridium perfringens* toxino-types and type 'D' multidrug resistance profile in diarrheic sheep. *Pakistan Veterinary Journal*. 380: 271-275.

-I-

Institut national de santé public de Québec. 2022. Sommaire de surveillance des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline isolées des bactériémies dans la province de Québec, 2019-2020.

-J-

Jarraud S., Lyon G.J. and Figueiredo A.M. 2000. Exfoliatin - producing strains define a fourth agr specificity group in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*. 182: 6517- 6522.

Jarraud S., Mougél C., Thioulouse J., Gérard L., Meugnier H., Forey F., Nesma X., Etienne J. and Vandenesch F. 2002. Relationships between *S. aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infection and Immunity*.70: 631–641.

Joël Le Galudec, Mathieu Dupoy, Véronique Rebuffel and Pierre R. Marcoux. 2023. Microbial identification through multispectral infrared imaging of colonies: combining chemical and morphotype analysis. *Research square*. 22:72-97.

Jonas D., Grundmann H., Hartung D. et al. 1999. Evaluation of the mec A fem B duplex polymerase chain reaction for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18:643–647.

Jouzeau A., Chabaud A., Péfau M., Dugravot L., Martin C., Ploy M., Simon L. and Dumartin C. 2022. Évolution des consommations d'antibiotiques à visée anti Staphylocoques résistants à la méthicilline en établissements de santé entre 2019 et 2020. *Médecine et maladies infectieuses formation*. 1: 2-22.

-K-

Kalambry A.C., Guindo I., Sidiki B., Dramé I., Kassogué A., Koné H.M., Togo S., Yéna S., Kané B., Doumbia S. and Diakité M. 2022. Bacteriological and resistance profile of bacteria isolated from pleurisy at the Teaching Hospital, Hospital of Mali. *Easy Chair Preprint*. 8134:1-11. <https://easychair.org/publications/preprint/download/9QgM>

Kaltenboeck B. and Wang C. 2005. Advances in real-time PCR: application to clinical laboratory diagnostics. *Adv. Clin. Chem.* 40:219-259.

Katayama Y., Ito T. and Hiramatsu K.A. 2000. New Class of Genetic Element, *Staphylococcus* Cassette Chromosome mec, Encodes Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:1549-1555. [doi:10.1128/AAC.44.6.1549-1555](https://doi.org/10.1128/AAC.44.6.1549-1555)

Kehrenberg C. et al. 2009. Methicillin-resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* strains of clonal lineages ST398 and ST9 from swine carry the multidrug resistance gene cfr. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 53(2): 779- 781.

Kesah C., Ben Redjeb S., Odugbemi T.O., Boye C.S-B, Dosso M., Ndinya Achola J.O. et al. 2003. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clin Microbiol Infect.* 9:153-156.

Kim M. 2019. *Staphylococcus aureus* Toxins: From Their Pathogenic Roles to Antivirulence Therapy Using Natural Products. *Biotechnology and bioprocess engineering*. 24: 424-435.

Kloos W.E. and Shleifer K.H. 1975. Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species. *Journal of clinical Microbiology*. 1: 82- 88.

Kloos W.E. and Lambe D.W. 1981. *Staphylococcus*. In manual of clinical microbiology, 4th ed Am. Soc. *Microbiology*. 222-235.

Kollef Marin H., Torres Antoni Shorr, Andrew F., Martin-Loeches Ignacio and Micek Scott T. 2021. Nosocomial Infection. *Critical Care Medicine*. 49(2): 169-187.

Krupa P. et al. 2014. Genotypes and oxacillin resistance of *Staphylococcus aureus* from chicken and chicken meat in Poland. *Poultry Science*. 93(12): 3179-3186.

Kuroda M., Ohta T. and Uchiyama I. 2001. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 357: 1225- 1240.

-L-

Leclercq R. 2002. Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. *Ann Fr Anesth Réanim*. 21: 375- 383.

Le Minor, L. et Veron M. 1990. Bactériologie Médicale «*Staphylococcus et Micrococcus*». J. Fleurette 2^{ème} édition. Flammarion Médecine- Sciences, Paris. 773-794.

Lepelletier. 2006. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : incidence, facteurs de risque de colonisation et intérêt du dépistage systématique en unité de soins intensifs et réanimation. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 25 : 626–632

Lezzar N. 2017. Etudes comparatives des souches d'*Escherichia coli* aviaires et humaines. Thèse de Doctorat : Sciences vétérinaires. Constantine : Université frères Mentouri -Constantine1, 306p.

Lim D. and Strynadka N.C. 2002. Structural basis for the β lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Structural & Molecular Biology*. 9: 870-876.

Lina G., Piémont Y., Godail-Gamot F., Bes M., Peter M.O., Gauduchon V., Vandenesch F. and Etienne. 1999. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *J. Clin. Infect. Dis.* 29(5): 1128-1132.

Lindsay J.A. and Holden M.T. 2004. *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome. *Trends. Microbiol.*12: 378- 385.

Lindsay J.A. 2013. Hospital-associated MRSA and antibiotic resistance: What have we learned from genomics? *International Journal of Medical Microbiology.* 303: 318-323.

Lorette G., Beaulieu P., Bismuth R., Duru G., Guihard W., Lemaitre M. et al. 2003. Infections cutanées communautaires : bactéries en cause et sensibilité aux antibiotiques. *Ann. Dermatol. Venereol.* 130: 723-728.

Louie L., Matsumura S.O., Choi E., Louie M. and Simor A.E. 2000. Evaluation of 3 rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 38:2170-2173.

-M-

Malachowa N. and Deleo F.R. 2010. Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cellular and Molecular Life Sciences.* 67: 3057-3071.

Marmonier A.A. 1985. Technique de diffusion en gélose : Méthode de disques. **In :** CARBONNELLE B., DENIS F., MARMONIER A., PINON G. et VARGUES R., eds. Bactériologie médicale : techniques usuelles. Paris : Simep, 237-243.

Maryam Shahid, Riaz Hussain, Zeeshan Nawaz, Bilal Aslam, Muhammad Zishan Ahmad, Abu Baker Siddique, Hira Ahsan, Aiman Fatima, Iahtasham Khan, Bilal Mustafa, Rashid Iqbal, Khalid M. Al Syaad and Ashwag Shami. 2023. Occurrence of Virulence Genes among Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Subclinical Bovine Mastitis. *American Chemical Society Journal.* 8: 38111-38117.

Mc Guinness W.A., Malachowa N., DeLeo F.R. 2017. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale. J. Biol. Med.* 90(2): 269–281.

Merlet A. 2010. Implication de la leucocidine de Panton et Valentine dans les infections sévères à *Staphylococcus aureus* en Nouvelle-Calédonie thèse de doctorat : Université Bordeaux 2 des sciences médicales.117p.

Mesrati I., Saïdani M., Ennigrou S., Zouari B. and Ben Redjeb S. 2010. Clinical isolates of Pantone Valentine leucocidin and gamma-haemolysin-producing *Staphylococcus aureus*: prevalence and association with clinical infections. *J. Hosp. Infect.* 75:265-340.

Michael J., Reid Rebecca A., Fischer S., Naledi Mannathoko B., Charles Muthoga, Erin McHugh, Heather Essigmann, Eric L. Brown and Andrew Steenhoff. 2017. Prevalence of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage in Human Immunodeficiency Virus–Infected and Uninfected Children in Botswana: Prevalence and risk factors. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 96:795-801.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0650>.

Millar B.C. et al. 2007. Proposed definitions of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Journal of Hospital Infections.* 67: 109-113.

Mitevska E., Britney Wong, Bas G. J., Sure waard and Craig N. Jenne. 2021. The prevalence, risk, and management of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in diverse populations across Canada: A Systematic Review. *Pathogens.* 10: 393-397.

Moet G.J., Jones R.N., Biedenbach D.J., Stilwell M.G. and Fritsche T.R. 2007. Contemporary causes of skin and soft tissue infections in North America, Latin America, and Europe: Report from the SENTRY: Antimicrobial Surveillance Program (1998–2004). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 57:7-13. [doi:10.1016/j.diagmicrobio.2006.05.009](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.05.009)

Moran G.J., Krishnadasan A., Gorwitz R.J., Fosheim G.E., McDougal L.K., Carey R.B. and Talan D.A. 2006. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *New England Journal of Medicine.* 355: 666-674.

Morgene M.F. 2018. Modélisation in vitro de la colonisation à *Staphylococcus aureus* ; interactions avec l'infection à rhinovirus. Thèse de doctorat : Biologie moléculaire et cellulaire. Lyon : Université de Lyon, 261p.

Mougeot C., Guillaumat-Taillet J. et Libert J.M. 2001. *Staphylococcus aureus*: nouvelle détection de la résistance intrinsèque par la méthode de diffusion. *Pathol Biol.* 49: 199-204.

Moulin, M. et Coquerel, A. 2002. Pharmacologie: Connaissances et pratique. Paris : Masson; 845 p.

Murakami K, Minamide W., Wada K., Nakamura E., Teraoka H. and Watanabe S.1991. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *Clinical Microbiology.* 29: 2240–2244.

-N-

Naimi T.S., Le Dell K.H., Como-Sabetti K., Borchardt S.M., Boxrud D.J., Etienne J. et al. 2003. Comparison of community and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA. J. Am. Med. Assoc.* 290: 2976–2984. [doi:10.1001/jama.290.22.2976](https://doi.org/10.1001/jama.290.22.2976)

Nandita Subba Rao, Prajna Pramod Nayak and Prasad K.V.V. 2020. Conveyance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains among dental professionals with varying levels of clinical exposure: A comparative study. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research.* 10: 310-313.

National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). 2000. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 5th edition. Approved standard M7-A5. Wayne, Pennsylvania: NCCLS.

National nosocomial infections surveillance (NNIS). 2004. System report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am. J. Infect. Control.* 32:470.

Nauciel C. 2005. ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2 ème édition. MASSON, Paris. 83- 85.

Nemeghaire S. et al. 2013. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from healthy carrier chickens. *Avian Pathology*. 42(4): 342-346.

Nhan T.X., Gillet Y. and Vandenesch F. 2012. Diagnostic et traitements des infections toxiques à *Staphylococcus aureus*. *Journal des Anti-infectieux*. 14:117-126.

-O-

Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA),2011. Rapport d'activité 2009-10/ Annual Report 2009-10. Vivactis Plus Ed. ISBN 978-2-916641-53-9.

Okou O.C. 2013. Efficacité et spectre d'activité des extraits de *Mitracarpus scaber* Zucc. ex Schult + Scult.f. (Rubiaceae) et de l'acide fusidique sur les bactéries Cocci Gram positif. Thèse de doctorat : Pharmacologie des substances naturelles. Cote d'Ivoire. Université Félix Houphouët-Boigny, 333p.

-P-

Pantosti A., Sanchini A., Monaco M. 2007. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques dans *S. aureus*. *Future. Microbiol.* 2(3): 323-34

Paterson G.K., E.M. Harrison and M.A. Holmes. 2014. The emergence of mec C methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*. 22: 42-47.

Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. 2008. Approved Standard-Third Edition. CLSI document M31-A3, *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Vol. 28 (8).

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 2010. Approved Standard- Twentieth Informational Supplement. CLSI document M 100-S20, *Clinical and Laboratory Standards Institute*, Vol. 30 (1).

-R-

Rahal K., Belouni R., Tali-Maamar H. et Boudouane M. 2012. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Randrianirina F., Soares J.L., Ratsima E., Carod J.F., Combe P., Grosjean P. et al. 2007. In vitro activities of 18 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from the Institut Pasteur of Madagascar. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 6:5. doi: [10.1186/1476-0711-6-5](https://doi.org/10.1186/1476-0711-6-5)

Rasigade J.P, Dumitrescu O. and Lina G. 2014. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 20(7): 587-588.

Rebiahi S.A., Abdelouahid D.E, Rahmoun M., Abdelali S. and Azzaoui H. 2011. Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Médecine Mal. Infect.* 41:646-651. doi:[10.1016/j.medmal.2011.09.010](https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.09.010).

Reyes J., Rincón S., Díaz L., Panesso D., Contreras G.A., Zurita J., Carrillo C., Rizzi A., Guzmán M., Adachi J., Chowdhury S., Murray B.E. and Arias C.A. 2009. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. *Clinical Infectious Diseases.* 49:1861–1867.

Ross J.I., Eady E.A., Cove J.H., Cunliffe W.J., Baumberg S. and Wootton J.C. 1990. Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport supergene family. *Mol Microbiol.* 4: 1207-1214.

Rossney A.S., Herra C.M., Brennan G.I., Morgan P.M. and O’Connell B. 2008. Evaluation of the Xpert methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) assay using the Gene Xpert realtime PCR platform for rapid detection of MRSA from screening specimens. *J. Clin. Microbiol.* 46:3285-3290.

Ruimy R., Dos-Santos M., Raskine L., Bert F., Masson R., Elbaz S. et al. 2008. Accuracy and potential usefulness of triplex real-time PCR for improving antibiotic treatment of patients with blood cultures showing clustered gram-positive cocci on direct smears. *J. Clin. Microbiol.* 46:2045-2051.

-S-

Saied T., Elkholy A., Hafez S.F., Basim H., Wasfy M.O., El-Shoubary W. et al. 2011. Antimicrobial resistance in pathogens causing nosocomial bloodstream infections in

university hospitals in Egypt. *Am. J. Infect. Control.* 39: 61-100.
doi:10.1016/j.ajic.2011.04.009.

Sato A., Yamaguchi T., Hamada M., Ono D., Sonoda S., Oshiro T., Nagashima M., Kato K., Okazumi S., Katoh R., Ishii Y. and Tateda K. 2019. Morphological and Biological Characteristics of *Staphylococcus aureus* Biofilm Formed in the Presence of Plasma. *Microbial drug resistance.* 25: 668–676.

Seydi M., Sow A., Soumaré I., Diallo M., Hatim H.M., Tine B., Diop R. and Sow B.M. 2004. Place des bactériémies à *Staphylococcus aureus* au CHU de Fann à Dakar. *Méd. Mal. Infect.* 34: 210-215.

Shittu A., Oyedara O., Abegunrin F., Okon K., Raji A., Taiwo S., et al. 2012. Characterization of methicillin-susceptible and -resistant staphylococci in the clinical setting: a multicentre study in Nigeria. *BMC. Infect. Dis.* 12:286. doi:10.1186/1471-2334-12-286.

Shoab A., Bani Mfarrej M.F., El-Esawi M. and Waseem M. 2022. Chromium-resistant *Staphylococcus aureus* alleviates chromium toxicity by developing synergistic relationships with zinc oxide nanoparticles in wheat. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 230: 113-142.

Skiest J.D., Brown K., Travis W.C., Holly H-R., Huda R.M. and Elliott A.C. 2007. Prospective comparison of methicillin-susceptible and methicillin-resistant community-associated *Staphylococcus aureus* infections in hospitalized patients. *J. Infect.* 54: 427-434.

Song J-H., Hsueh P-R., Chung D.R., Ko K.S., Kang C-I., Peck K.R. et al. 2011. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORP study. *J. Antimicrob Chemother.* 66:1061-1069.

Speller D.C., Johnson A.P., James D., Marples R.R., Charlett A. and George R.C. 1989. Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid. *England and Wales.* 350:323-325.

Spicer W.J. 2003. Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. Flammarion Médecine- Sciences, Paris. 28- 29.

Stefani S., Chung D.R., Lindsay J.A., Friedrich A.W., Kearns A.M., Westh H., et al. 2012. Meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 39:273-382. [doi:10.1016/j.ijantimicag](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag).

-T-

Tanaka K, xxx, xxxx. 1988. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2:151-153.

Tayyabur R., Rizwan A., Amjad I. A., Mashkoo M., Manzoorc A.M., Ali Hasana Huma Sattard Muhammad Fakhar-e-Alam, KulyareIqra Muzammilc and Wangyuan Yao. 2020. Phylogeny of hospital acquired MRSA, and its comparative phenotypic clinico-epidemiology with vancomycin resistant *S. aureus* (VRSA). *Microbial Pathogenesis.* 149: 104-537.

Tenover F. C. 1999. Implications of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection.* 43.

Timothy R. Walsh, Ana C. Gales, Ramanan Laxminarayan and Philippa C. Dodd. 2023. Antimicrobial Resistance: Addressing a Global Threat to Humanity. *PLOS MEDICINE.* 42-64.

Thiolet J.M., Lacavé L.P., Jarno M., Metzger H., Tronel H., Gautier C., L'Hériveau F., and Coignard B. 2007. Prévalence des infections nosocomiales, France, 2006. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire.* 25: 51-52.

Tong S.Y., Davis J.S., Eichenberger E. et al. 2015. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev.* 28(3): 603–661.

Touaitia R. 2016. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de doctorat : Microbiologie. Annaba : Université Badji Mokhtar Annaba, 125p.

Trad S., Allignet J., Frangeul L., Davi M., Vergassola M., Couve E. et al. 2004. DNA microarray for identification and typing of *Staphylococcus aureus* isolates. *J. Clin. Microbiol.* 42:2054-2064.

Turlej A., Hryniewicz W. and Empel J. 2011. Staphylococcal cassette chromosome mec (Sccmec) classification and typing methods: an overview. *Pol. J. Microbiol.* 60: 95-103.

-U-

Udo E.E., Aly N.Y.A., Sarkhoo E., Al-Sawan R. and Al-Asar A.S.M. 2011. Detection and characterization of an ST97-SCCmec-V community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone in a neonatal intensive care unit and special care baby unit. *J. Med. Microbiol.* 60: 600-604.

Uhlemann A.C. et al. 2014. Evolution of community-and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection Genetics and Evolution.* 21: 563-574.

-V-

Valderrama S., Gualtero S.B., Moreno C.A., Alvaro F.G., Yesid R.J. and Johann R. 2019. Risk factors associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections in hospitalized patients in Colombia. *International Journal of Infectious Diseases.* 87:60–66.

Vanden Bergh, M.F., Yzerman E.P., van Belkum A., Boelens H.A., Sijmons M. and Verbrugh H.A. 1999. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. *J. Clin. Microbiol.* 37:3133-3140.

Van Leeuwen WB., Jay C., Snijders S., Durin N., Lacroix B., Verbrugh HA. et al. 2003. Multilocus sequence typing of *Staphylococcus aureus* with DNA array technology. *J Clin Microbiol.* 41:3323-326.

Van Loo I.H. et al. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases*. 13: 1753- 1755.

Voilliot. 2012. Aspect clinique des infections cutanées à *Staphylococcus aureus* sécréteurs de Leucocidines de Panton Valentine à propos de 15 cas. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de Nancy. Université de lorraine, 77-78P.

-W-

Weisblum B. 1995. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother*. 39: 577-585.

Werckenthin C., Cardoso M., Martel J.L. and Schwarz S. 2001. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. *Veterinary Research*. 32: 341-362.

Wikler M.A. 2007. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: seventeenth informational supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Wondrack L., Massa M., Yang B.V. and Sutcliffe J. 1996. Clinical strain of *Staphylococcus aureus* inactivates and causes efflux of macrolides. *Antimicrob Agents Chemother*. 40: 992-998.

-Z-

Zarfel G., Krziwanek K., Johler S., Hoenig M., Lettner E., Kittinger C., Masoud L., Feierl G. and Grisold A.J. 2013. Virulence and antimicrobial resistance genes in human MRSA ST398 isolates in Australia. *Epidemiology and Infection*. 141(4): 888-892.

Annexes



Annexes

Annexe 01 : Milieux de culture

1. Milieu de Chapman : Il est utilisé en bactériologie médicale, c'est un milieu hyper salé à 7,5% de Na Cl et 1% de mannitol et contenant du rouge de phénol (indicateur de pH), il permet principalement la croissance des espèces du genre *Staphylococcus* au détriment des autres bactéries contenues dans un produit pathologique.

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

Extrait de viande (bovin ou porcine).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcine).....	10g
Chlorure de sodium... ..	75g
Mannitol.....	10g
Agar.....	15g
Rouge de phénol.....	0,025g
pH=7,6	

2. Gélose Nutritive : Elle constitue un excellent milieu de culture, utilisée en bactériologie médicale, elle permet le développement de la plupart des microorganismes, parmi eux le *Staphylocoque*. La bactérie étalée à la surface de la gélose formera autant de colonies.

Composition :

Peptone... ..	10.0g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de sodium... ..	5g
Agar... ..	10.0g
pH=7.3	

Préparation : 42.5 g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min.

3. Gélose Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf	300ml
Peptone de caséine.....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar.....	10.0g

pH= 7.4

Préparation : Prêt à l'emploi en flacons de 250 ml.

4. Gélose au Sang Cuit (GSC): Obtenu en ajoutant 5ml de sang cheval pour chaque 100ml de gélose ordinaire préalablement fondue et refroidie à 70°C, la température est maintenue à 70°C pendant 10 minutes. Le milieu est refroidi à 50°C avant de le couler en boîtes de Pétri pour éviter la condensation des globules rouges.

Composition :

Mélange spéciale de peptones... ..	23.0g
Amidon... ..	1.0g
Chlorure de sodium... ..	5.0g
Agar... ..	0.7g

pH=7.3

Préparation : 42.5g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20 min. le sang est ajouté stérilement dans le milieu stérile en surfusion.

5. Milieux d'enrichissement «Infusion cœur-cervelle » : est un milieu liquide, suffisamment riche pour permettre la culture d'un maximum d'espèces microbiennes. Un échantillon du prélèvement est introduit dans 5ml de bouillon nutritif, il permet après une incubation à 37°C pendant 24 heures d'obtenir une multiplication des microorganismes.

Composition :

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

pH= 7.4

Préparation : prêt à l'emploi en petits tubes.

Annexe 02 : Réactifs et solution

1. Bleu de méthylène

Bleu de méthylène	20.0g
Phénol.....	20.0g
Éthanol à 0.95.....	100 cm ³
Eau distillée	1dm ³

2. Réactifs de la coloration de Gram

2.1. Violet de gentiane:

Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
eau distillée	100 ml

2.2. Lugol:

Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée	300 ml

2.3. Alcool (éthanol)

2.4. Fuschine de ziehl:

Fuchine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée	100 ml

3. Sérum physiologique :

Chlorure de Sodium.....	9g
Eau distillée	1000 ml

Annexe 03 : Appareil d'identification moléculaire

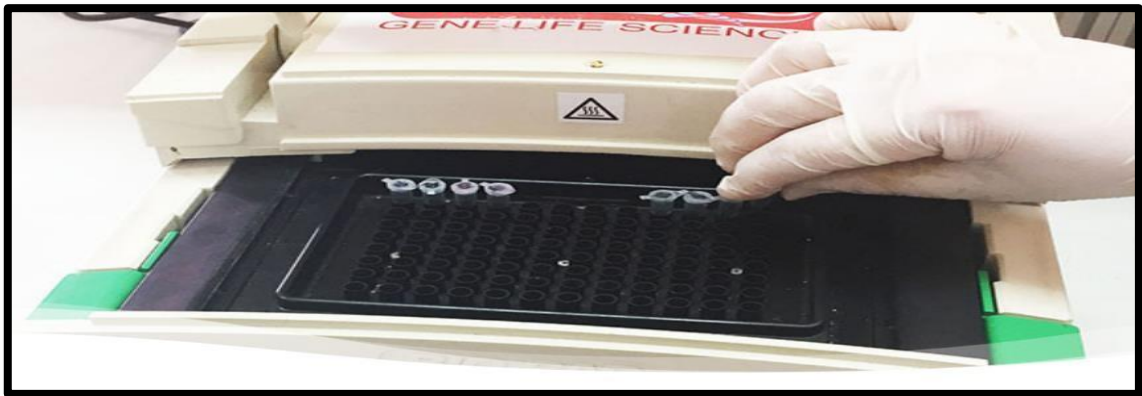


Figure 1: Termocycleur Gene Life (PCR)



Figure 2 : Matériels d'identification moléculaire des espèces

Annexe 04 : Tableau lecture API 20 STAPH

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
				incoloro-rose pâle	rouge
PAL	β-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u>	
				incoloro, beige-rosé, violet très pâle	Violet
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u>	
				incoloro-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFFinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

Annexe 05: Feuille d'identification des espèces par API 20 STAPH (Excel).

API 20 Staph	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR	P(taxon / profil)	P(taxon / profil)	P(plus typique)	S	taxons
Profiil	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	?				1,00E-05	
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0	7,53E+30	3,5%	1,99E+39	-0,68	-
<i>Staphylococcus auricularis</i>	100	99	36	72	10	90	9	0	0	81	0	1	0	0	40	0	15	90	1	0	4,69E+26	0,0%	1,23E+39	-1,48	-
<i>Staphylococcus capitis</i>	100	99	80	43	22	2	36	0	0	86	23	90	0	0	50	0	1	85	35	0	8,91E+29	0,4%	3,60E+38	-0,72	-
<i>Staphylococcus caprae</i>	100	99	70	10	75	74	10	0	0	99	95	99	0	0	0	0	1	99	60	0	6,32E+29	0,3%	1,71E+39	-0,89	-
<i>Staphylococcus carnosus</i>	100	100	99	0	99	99	99	0	0	99	83	83	0	0	0	0	10	10	0	0	6,68E+21	0,0%	6,55E+39	-2,60	-
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	100	100	99	79	100	100	13	0	0	96	96	1	0	1	10	0	31	89	95	0	3,66E+29	0,2%	3,59E+39	-1,00	-
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	100	99	66	99	2	97	88	33	0	21	66	94	0	0	2	0	9	2	1	0	2,34E+26	0,0%	1,54E+39	-1,56	-
<i>Staphylococcus cohnii spp uralyticum</i>	100	100	99	98	98	100	94	64	0	1	94	87	0	0	0	0	98	0	99	0	6,79E+22	0,0%	4,49E+39	-2,36	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100	99	70	99	81	2	0	0	1	80	84	68	1	0	97	4	18	73	88	0	5,79E+30	2,7%	1,20E+39	-0,66	-
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	99	75	5	99	80	91	60	0	1	78	3	57	0	0	98	13	83	85	1	0	4,40E+26	0,0%	7,76E+38	-1,45	-
<i>Staphylococcus hominis</i>	98	94	41	97	50	86	28	0	1	82	27	70	1	0	97	4	50	43	84	0	2,93E+31	13,7%	1,49E+38	-0,34	-
<i>Staphylococcus hyicus</i>	100	99	99	0	87	99	0	0	10	90	90	15	0	0	99	2	93	10	68	0	7,08E+29	0,3%	3,21E+39	-0,93	-
<i>Staphylococcus lentus</i>	100	100	100	100	100	100	10	7	99	92	21	57	10	10	10	28	10	0	1	0	7,30E+24	0,0%	2,72E+39	-1,91	-
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	100	89	88	99	66	99	0	0	0	99	16	99	0	0	10	0	90	1	50	0	2,05E+29	0,1%	1,86E+39	-0,99	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	100	99	2	97	90	99	88	22	0	35	14	79	1	0	96	1	70	30	65	0	3,79E+27	0,0%	7,62E+38	-1,26	-
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	100	80	100	0	1	71	0	0	0	99	97	99	0	0	0	0	94	99	0	0	3,18E+26	0,0%	4,97E+39	-1,64	-
<i>Staphylococcus sciuri</i>	99	99	99	99	70	93	98	0	0	83	67	30	0	16	95	7	68	0	0	0	4,05E+27	0,0%	1,20E+39	-1,29	-

Nom : **AZIZI**

Prénom : **NASSIMA**

Thèse de Doctorat : **Sciences Biologiques**

Année de soutenabilité : **2023/2024**

**PREVALENCE ET PROFIL D'ANTIBIORESISTANCE DES SOUCHES
STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTANTES A LA METICILLINE (SARM)
ISOLEES DES MILIEUX HOSPITALIERS DANS LA WILAYA DE TEBESSA**

Résumé : *Staphylococcus aureus* est un agent pathogène humain d'importance clinique lié à une variété d'infections. L'analyse microbiologique basée sur des caractères morpho-physio-biochimiques de **1200** prélèvements hospitaliers, dont l'objectif est de déterminer la prévalence des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans la wilaya de Tébessa, a révélé la présence de **250** souches de *S. aureus* avec un taux de **20,83 %**. Un antibiogramme accompagné d'un dépistage à l'oxacilline (6 µg mL⁻¹) a permis de détecter un nombre de **78** souches SARM; avec un taux de **31,2 %**. L'étude épidémiologique a révélé que les facteurs de risque : âge, nature de prélèvement et l'utilisation de β-lactamines par les patients ont une relation avec l'infection à SARM. D'autre part; la présence de SARM n'a aucune relation avec le facteur sexe des patients hospitalisés. Le SARM isolé à partir d'échantillons hospitaliers a montré une résistance à d'autres familles d'antibiotiques ; la famille des tétracyclines avec un taux de **79,49%**, la famille des macrolides (érythromycine) **51,28%** et certains aminoglycosides (amikacine et vancomycine) avec **53,85** et **52,56%** respectivement. La détection de la résistance à la méticilline a été complétée par la recherche du gène de résistance mec A par PCR.

La multi résistance des souches SARM est non négligeable, d'où la nécessité d'une surveillance régulière. Le portage du SARM dans le milieu hospitalier à la wilaya de Tébessa est préoccupant. Il est absolument nécessaire de contrôler la diffusion de ces souches pour le contrôle des épidémies à germes multi résistants.

Mots clés : Antibiogramme, Epidémiologie, Milieu hospitalier, Multi résistance, SARM.