



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Microbiologie Appliquée

Thème :

***Prévalence de Staphylococcus aureus
responsables des infections cutanées
dans la Wilaya de Tébessa***

Présenté par :

Hattabi Hala Hafallah Naoua Zerkane Rahma

Membres de Jury:

<i>Dr. Mechai A.</i>	<i>(MCA)</i>	<i>Université de Tébessa</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. Azizi N.</i>	<i>(MAA)</i>	<i>Université de Tébessa</i>	<i>promotrice</i>
<i>Dr. Belbel Z.</i>	<i>(MCB)</i>	<i>Université de Tébessa</i>	<i>Examinatrice</i>

Année universitaire : 2019/2020

SOMMAIRE		page
Remerciements		
Dédicace		
Liste des Tableaux		
Liste des Figures		
Liste des Abréviations		
ملخص		
Résumé		
Abstract		
Introduction		2
PARTIE THEORIQUE		
Chapitre I: Généralité sur S. aureus		
1.Description générale du S. aureus		6
2.Classification.		6
3.Caractères d'identifications		6
3.1.Caractères phénotypiques et cultureux.		6
3.2.Caractères physiologiques.		7
3.3.Caractères moléculaires.		7
4.Épidémiologie des infections à S. aureus.		7
4.1.Colonisation.		7
4.1.1.Transmission		8
4.1.2.Répartition des infections à Staphylocoques.		8
5. S. aureus résistant à la méthicilline.		9
6.Physiopathologie des infections à S. aureus.		9
6.1.Les facteurs de virulence du S. aureus.		9
6.1.1.les protéines de surface ou facteurs d'adhérence.		10
6.1.2.les facteurs de virulence solubles.		10
Chapitre II : Les infections à S. aureus .		
1.Définition.		13
2.Epidimiologie.		13
3.Facteurs favorisant une infection bactérienne cutanéé.		13
4.Les principaux agents étiologique.		14
5.Les types des infections cutanéés.		16
5.1.La cellulite.		16
5.2.L'impétigo.		16
5.3.La folliculite.		17
5.4.L'abcés cutanéé.		17
5.5.Le furoncle.		17

6. Mode de transmission.	18
7. prophylaxie et antibiothérapie des infections cutanéés.	18
8. Depistage d'une infection cutanéé à SARM.	19
9. Traitement des infections cutanéés à <i>S. aureus</i> .	19
PARTIE EXPERIMENTALE	
Chapitre1 : Matériels et methodes	
1. Objectif d'étude	23
2. Cadre de l'étude	23
3. Prélèvements	23
3.1. Prélèvement à partir des surfaces sèches.	23
3.2. Prélèvement à partir des surface humides.	23
3.3. Conditions de prélèvement.	25
4. Isolement	25
5. Purification et conservation	25
6. Identification.	25
6.1. Examens macroscopiques	25
6.2. Examens microscopiques	27
6.2.1. Coloration de Gram.	27
6.3. Test de Catalase	28
6.4. Test de coagulase	28
7. Antibiogramme des souches <i>S. aureus</i> .	29
a. principe.	29
b. Technique	30
c. Lecture et interprétation	31
Chapitre2 : Résultats et discussion	
1. Prélèvement.	33
2. isolement et identification.	34
2.1. Identification morphologique.	34
2.1.1. Examen macroscopique.	34
2.1.2. Examen microscopique.	35
2.2. Identification biochimique .	36
2.2.1. Catalase.	36
2.2.2. Caogulase.	36
3. Répartitios des espèces selon la production de coagulase.	38
4. Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i> .	38
5. Enquête épidémiologique	39
5.1. Le sexe.	39
5.1. L'age.	40
5.3. L'état de malade.	40

<i>5.4.la nature de prélèvement.</i>	41
<i>6.Résistance aux antibiotiques.</i>	41
<i>6.1.Niveau de résistance.</i>	41
<i>Discussion générale</i>	44
<i>Conclusion</i>	49
<i>Recommandation</i>	52
<i>Références bibliographiques</i>	55
<i>Annexes</i>	61



Remerciements

En premier lieu nous tenons à remercier Allah, notre créateur, qui nous a donné la capacité de compléter ce travail et qui nous a aidé à dépassé toutes les difficultés que nous a rencontré.

Nous tenons à remercier notre chère encadreur madame Mme Azizi Nassima, pour sa patience, son soutien tout au long de la période de réalisation de ce travail la remercier pour sa gentillesse, sa disponibilité, ses conseils intéressant et ses encouragements.

On exprime nos profonde remerciements à Mr. Mechai Abd el bassette et Mme Belbel Zineb

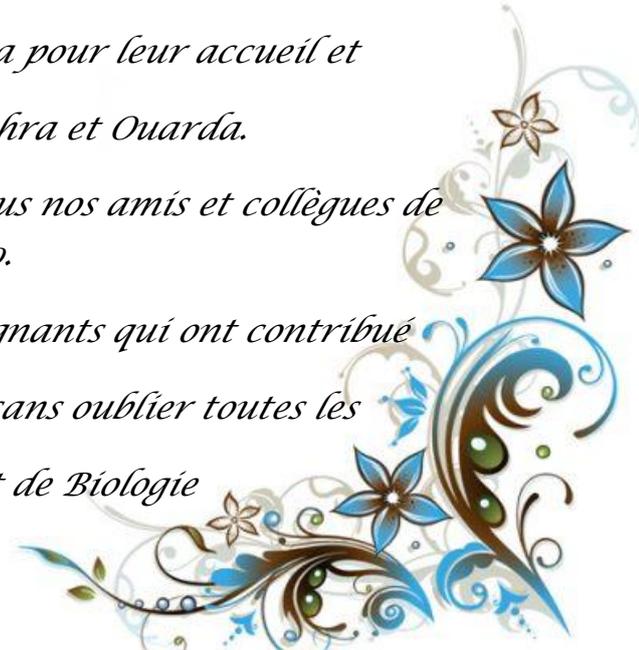
, d'avoir accepté d'être parmi les membres de Jury.

On tient à exprimer nos vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail tout particulièrement

Tout le personnel de laboratoire du département de biologie de l'université de Tébessa pour leur accueil et sympathie, spécialement Chahra et Ouarda.

Nos remerciements vont également à tous nos amis et collègues de promotion 2020.

On remercie ainsi l'ensemble des enseignants qui ont contribué au cours des années universitaire, sans oublier toutes les personnes de département de Biologie



Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie

ce modeste travail :

A mon Père ALALLALI : Un homme éternel, beau et pur. Pour ta confiance,

ton amour.

A ma mère HADHDRIA : Tu m'as donné ton amour, ta tendresse et toute ton attention. Dans la difficulté tu as toujours été prompte à me venir en aide. Merci pour tes conseils et tes encouragements. Tu restes dans mes pensées et dans mon cœur.

Mes chères sœurs SAOUSEN ET MANEL : Merci pour votre soutien, Merci pour tous les efforts auxquels tu as toujours consentis pour moi voir réussir. Merci pour tes encouragements et tes conseils. Vous restez dans mes pensées et dans mon cœur.

A mon très chers frère ATEF : pour son sacrifices consentis tout au long de ce travail et pour son soutien.

Les êtres les plus proches à mon cœur : Loubna et Nesrine.

A toute la promotion de la microbiologie

HALA

Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce travail :

A la mémoire de mon père Younes.

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, l'honneur et la fidélité que j'ai toujours eu pour toi.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de ta confiance pour mon éducation et ma formation.

A ma très chère Maman Baya Tahri..

tu représentes pour moi le symbole de la douceur la source de tendresse et l'exemple de l'allégerance qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Tu m'as donné ton amour, ta tendresse et toute ton attention. ta prière pour moi.

Merci pour tes conseils et tes encouragements. tu reste toujours dans mon cœur et mes pensées

A mon chère sœur Abir ::tu es un morceau de mon âme ,tu es mon soutien dans ma vie j'aime beaucoup.

A tous mes oncles et tantes : Merci pour vos encouragements et vos conseils.

A tous mes cousins et cousines : Merci pour vos encouragements.

A toute la promotion de la microbiologie

NAOUA

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole
tendresse qui*

A ma mère

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

Que dieu les garder et les protège

*J'espère que je suis la bonne fille que vous souhaitez de l'avoir et je suis
une source de fierté pour vous*

*A mon très chers frère **ILYES***

*A mon adorables sœur **FERIELLE, NOUR, YASSMIN***

Qui je souhaite une vie pleine de joie, réussite et beaucoup de bonheur

*A mes amies proches, **SOURAYA LA Mère DE AMIRA, RECHÉCHÉ
NOURA, AOUN ASMA, SARRA, MEELIM NESSRINE, MOUSSA
ABIR***

*A mes binômes **HATABI HALA, NAWA***

*Remerciements particuliers au médecin biologiste **ABDELMALEK
GUEZOULLI***

*Qui je souhaite une bonne continuation dans leur vie soit privé ou
professionnelle*

A tout ma promotion,

A tous ceux qui me sont chère,

A tous ceux qui m'aiment,

A tous ceux que j'aime,

Je dédie ce travail.

RAHMA

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification selon Bergey's (1994)	6
02	Classement des antibiotiques anti-staphylococciques	20
03	Dates et sites des prélèvements	24
04	Antibiotiques testés pour les souches de <i>S. aureus</i>	30
05	Répartition globale des prélèvements selon la région.	33
06	Résultats de pré-identification par les techniques microbiologiques standards.	37
07	Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i>	38

Liste des Figures

N°	Titre	Page
01	Pouvoir pathogène d'invasion tissulaire par <i>S. aureus</i> .	11
02	Expression des facteurs de virulence du <i>S. aureus</i> .	11
03	Localisation schématique des différentes Infections bactériennes de la peau.	14
04	impétigo bulleux.	16
05	ostio-folliculite.	17
06	Furoncle.	17
07	Ecouvillon stérile utilisé pour le prélèvement nasal ou cutané.	23
08	Aspect morphologique des colonies du <i>S. aureus</i> en culture dans Chapman.	25
09	Aspect morphologique des colonies du <i>S. aureus</i> en culture dans Chapman.	26
10	Test de Catalase positif.	28
11	test de coagulase positif.	29
12	Les étapes de l'antibiogramme.	31
13	Répartition globale des prélèvements selon le lieu de prélèvement	33
14	Aspect des colonies de <i>Staphylococcus</i> isolées sur Chapman	34
15	Aspect des colonies de <i>Staphylococcus</i> isolées sur gélose au sang.	35
16	Coloration de Gram	35
17	Test de catalase	36
18	test de coagulase libéré	37
19	Répartition des souches selon leur production de coagulase.	38
20	Répartition des prélèvements selon le sexe	39
21	Répartition des prélèvements selon l'âge	40
22	Répartition des prélèvements selon l'état de malade	40
23	Répartition selon la nature de prélèvement	41
24	Antibiogramme d'une souche <i>S. aureus</i>	42
25	Pourcentage de résistance des <i>S. aureus</i> isolées aux antibiotiques testés	42

Liste des Abréviations

SARM	le <i>Staphylocoque aureus</i> résistant à la méthicilline.
SCN	<i>staphylocoques</i> à coagulase négative .
VIH	virus de l'immunodéficience humaine .
SCC	staphylococcal cassette chromosome.
IgG	des immunoglobulines G .
PFT	sites de lésions où s'accumulent les plaquettes et les fibrines .
Ox	oxaciline
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
GISA	staphylococcus aureus résistant la vancomycine

الملخص

تحليل 47 عينة من عينات المستشفيات، والتي تهدف إلى تحديد انتشار العدوى الجلدية مع *S. aureus* في ولاية تبسة، أظهر وجود 36 عينة بنسبة 76٪.

تم بناء عزل وتحديد سلالات *S. aureus* على طرق ميكروبيولوجية تعتمد على الصفات المورفولوجية و الحيوية للبكتيرية.

تم تحديد بعض عوامل الخطر على أساس التحقيق الوبائي، وتم التحقيق في حساسية السلالات المعزولة لبعض المضادات الحيوية العلاجية من خلال طريقة نشر مولر هينتون agar-medium.

تظهر نتائج مقاومة المضادات الحيوية أن سلالاتنا المعزولة من المكورات العنقودية *Aureus* لديها مقاومة 100٪ للأكساسيلين و piperacillin، تليها التتراسيكلين 67٪، Kanamycin و 44% Vancomycin و Oflaxacin بنسبة 30٪ على التوالي.

معظم الالتهابات الجلدية سببها أساسا س. أوريوس الذي يسبب العدوى المعدية صديدي من الذي ظاهرة ظهور سلالات متعددة المقاومة في المدينة أصبحت مشكلة خطيرة في الولايات لدينا على مدى السنوات القليلة المقبلة. المعرفة ورصد ملامح حساسية سلالات *S. aureus* هو أمر بالغ الأهمية في إدارة العدوى التي تولدها هذه البكتيريا.

الكلمات الرئيسية: التهابات الجلد، المكورات العنقودية aureus، مقاومة المضادات الحيوية.

Résumé

L'analyse de **47** échantillons issus des prélèvements hospitaliers dont l'objectif est de déterminer la prévalence des infections cutanées à *S. aureus* dans la wilaya de Tébessa, a montré la présence de **36** *S. aureus* avec un pourcentage de **76%** .

L'isolement et l'identification des souches de *S. aureus* ont été fondés sur des méthodes microbiologiques basées sur les caractères morpho-biochimiques.

On a pu identifier quelques facteurs de risque à base d'une enquête épidémiologique, et étudier la sensibilité des souches isolées, pour certains antibiotiques à usage thérapeutique, par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton.

Les résultats de l'antibiorésistance montrent que nos souches isolées de *Staphylocoque aureus* présentent une résistance à **100%** pour l'oxacilline et la pipéraciline , suivi par les tétracyclines **67%**, la Kanamycine et la Vancomycine **44%** et l'Oflaxacine avec **30%** respectivement.

La majorité des infections cutanées sont due principalement par les *S. aureus* qui cause des infections purulentes transmissibles d'où le phénomène d'apparition de souches multi résistantes en ville est devenu un problème dangereux dans notre wilaya aux cours des années prochaines. La connaissance et la surveillance du profil de sensibilité des souches de *S. aureus* sont primordiales dans la prise en charge des infections générées par cette bactérie.

Mots clés : les infections cutanées, *Staphylocoque aureus*, antibiorésistance.

Abstract

Analysis of **47** samples from hospital samples, which aim to determine the prevalence of skin infections with *S. aureus* in the wilaya of Tebessa, showed the presence of **36** *S. aureus* with a percentage of 76%.

Isolation and identification of *S. aureus* strains were based on microbiological methods based on morpho-biochemical traits.

Some risk factors based on an epidemiological investigation were identified, and the sensitivity of isolated strains for certain therapeutic antibiotics was investigated by the Mueller-Hinton agar-medium diffusion method.

The results of antibiotic resistance show that our isolated strains of *Staphylococcus aureus* have **100%** resistance for oxacillin and piperacillin, followed by tetracyclines **67%**, Kanamycin and Vancomycin **44%** and Ofloxacin with **30%** respectively.

The majority of skin infections are caused mainly by *S. aureus* which causes purulent communicable infections from which the phenomenon of the appearance of multi-resistant strains in the city has become a dangerous problem in our wilaya over the next few years. Knowledge and monitoring of the sensitivity profile of *S. aureus* strains is paramount in the management of infections generated by this bacterium.

Keywords: skin infections, *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance.

Introduction



introduction

Les infections cutanées sont un motif de consultation fréquent et se caractérisent par un polymorphisme clinique qui peut conduire à des erreurs diagnostiques. Une certaine confusion peut exister quant aux termes utilisés pour décrire certaines lésions et quant au traitement, surtout depuis l'émergence des infections par le *Staphylocoque aureus* résistant à la méticilline (SARM). Au stade initial, le diagnostic différentiel d'une infection profonde est difficile en raison de lésions cutanées peu spécifiques.

Les infections cutanées sont des agressions de la peau essentiellement d'origine bactérienne et plus particulièrement causées par les *Streptocoques* et les *Staphylocoques*. La majorité des infections à Staphylocoques observées en ville sont liées à *S. aureus*. **(Bismuth et P. Bossi, 2010).**

Staphylocoque aureus est une bactérie ubiquiste que l'on trouve fréquemment sur la peau et les muqueuses de l'être humain. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que les syndromes liés à l'action des toxines.

Les dépistages épidémiologiques constituent un mécanisme de base pour la reconnaissance des causes, savoir les facteurs de risques et la protection de ces types d'infections; d'une manière simple et à coût réduit. Cet avantage est d'ailleurs plus important dans les pays de faible niveau socio-économique comme l'Algérie.

C'est dans ce contexte que nous avons choisi cette méthode pour étudier la prévalence de *Staphylococcus aureus* responsables des infections cutanées dans la wilaya de Tébessa.

Les objectifs de ce travail visent, par le biais des méthodes microbiologiques et des enquêtes épidémiologiques de déterminer la prévalence des infections cutanées à *S. aureus* dans notre wilaya, identifier quelques facteurs de risque, étudier la sensibilité aux antibiotiques de cette bactérie responsable d'infections cutanées et en fin, de faire passer des recommandations qui visent à minimiser le taux de ce type d'infection dans notre communauté.

C'est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail qui a été réalisé au laboratoire de microbiologie de l'université de Tébessa. L'étude est subdivisée en deux parties :

- La première partie consiste en une synthèse bibliographique donnant des notions générales sur les infections cutanées, généralité sur les *Staphylococcus aureus*.

introduction

- La deuxième partie est l'étude expérimentale qui englobe la partie matériels et méthodes utilisées dans notre travail suivi des résultats obtenus et discussion.
- Enfin une conclusion et les perspectives.

PARTIE
THEORIQUE





Chapitre I

Généralité sur S .aureus



1. Description générale du *S. aureus*:

Les *Staphylocoques* sont des bactéries à Gram positif inconstamment encapsulées, aéro-anaérobies facultatives, ubiquitaires. Ils se présentent le plus souvent sous l'aspect de coques rassemblées en amas irréguliers, ils sont parfois isolés, par paires ou en très courtes chaînes. Les critères de virulence de la bactérie in vitro sont directement corrélés à un équipement enzymatique complexe avec en premier lieu la capacité ou non de produire une enzyme de type coagulase.

on distingue l'espèce *Staphylococcus aureus* à coagulase positive appelée également staphylocoque doré (élaboration d'un pigment caroténoïde donnant une couleur dorée à la colonie), des autres espèces de staphylocoques à coagulase négative (SCN) que l'on regroupe aussi sous le nom de Staphylocoques blancs (par opposition au doré) : *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, etc. (Caby et al., 2010).

2. Classification :

Tableau 01 : Classification selon Bergey's (1994) (Ross J. et al, 1990).

Domaine	Bacteria ou Eubacteria
Phylum XIII	Firmicutes
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	Staphylococcaceae
Genre	Staphylococcus
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

3. Les Caractères d'identification :

3.1. Caractères phénotypiques et cultureux:

La coloration de Gram, la morphologie des colonies sur milieux gélosés et différents tests biochimiques permettent d'identifier le genre *Staphylococcus* et l'espèce *S. aureus*. Les Staphylocoques sont des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, catalase-positif et oxydase-négatif. La production d'une

coagulase, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *Staphylococcus aureus*. Les autres espèces sont regroupées sous le terme de staphylocoques à coagulase négative (SCN), dont le représentant principal est *S. epidermidis*. (Dinges MM, Orwin PM ;2000).

3.2.Caractères physiologique :

Le *S. aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, elle est cultivée sur les Milieux ordinaires (Gélose nutritive, bouillon nutritif...), sur gélose au sang et le milieu sélectif Chapman. C'est une bactérie mésophile toléré (37°C), neutrophile (pH7) et halophile (fortes concentrations de Na Cl).Elle est relativement résistante aux inhibiteurs bactériens comme le cristal violet et le tellurite de potassium. En bouillon ordinaire, la culture est rapide et les staphylocoques se multiplient en quelques heures, formant un trouble homogène ou un dépôt.(Wertheim, 2005).

3.3.Caractère moléculaire:

Le Staphylocoque doré possède un génome porté par un chromosome circulaire formé d'environ 2800 paires de bases et des éléments extrachromosomiques qui sont les prophages et les transposons, son contenu en GC est de 33 %. Son plasmide comporte environ 20 000 à 25 000 pb. Il a déjà été séquencé pour 6 souches de *S. aureus*.(LOWY .FD,1998).

4. Épidémiologie des infections à *S. aureus* :

4.1. Colonisation :

Les staphylocoques sont présents dans l'environnement (air, sol, eau, aliments, mobilier, matériels) et vivent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux dès la naissance. Le réservoir de *S .aureus* est essentiellement humain : on peut l'isoler particulièrement au niveau des zones chaudes et humides de l'organisme telles que les fosses nasales, l'oropharynx, les creux axillaires, le périnée et le tube digestif. Environ 20 % des individus l'hébergent de façon permanente (porteurs dits « sains »), 30 % de façon intermittente et 50 % ne sont pas porteurs. (F. Caby, R. Bismuth et P. Bossi, 2010) .

4.2. . Les facteurs de risque de colonisation par *S. aureus* sont :

- Âge avancé
- Sexe masculin
- Alcoolisme
- Pathologie pulmonaire chronique
- Néoplasie
- Diabète
- Insuffisance rénale terminale et dialyse.(**F. Caby, R. Bismuth, P. Bossi, 2010**).

4.1.1. Transmission :La transmission des staphylocoques s'effectue essentiellement par contact direct à partir de sujets colonisés ou de lésions staphylococciques ouvertes, cutanées ou muqueuses. La transmission indirecte est plus rare (objets divers, vêtements, literie, etc.) et elle est exceptionnellement aéroportée.

Les toxi-infections alimentaires collectives sont des épidémies concernant des sujets ayant consommé le même repas (restaurant, cantine), incriminant des aliments souillés par du personnel porteur de staphylocoques et dont les conditions de conservation ont permis la multiplication du germe, comme cela peut arriver à l'occasion d'une rupture de la chaîne du froid. (**F. Caby, R. Bismuth et P. Bossi, 2010**).

4.2.2. Répartition des infections à Staphylocoques :La majorité des infections à staphylocoques observées en ville sont liées à *S. aureus*. Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont exceptionnellement responsables d'infections communautaires spontanées. On peut cependant citer de rares infections urinaires à *S. saprophyticus* chez la femme jeune, à l'origine de cystites et d'exceptionnelles pyélonéphrites. En milieu hospitalier, l'essentiel des infections staphylococciques concerne également l'espèce *S. aureus*. Les SCN peuvent néanmoins être responsables d'infections nosocomiales (5 % des infections nosocomiales), favorisées par un terrain immunodéprimé (diabète, corticothérapie au long cours, virus de l'immunodéficience humaine [VIH], etc.), et surtout par la présence de matériel étranger (prothèses ostéoarticulaires, valvulaires, vasculaires, cathéters, sondes urinaires, etc.). (**F. Caby, R. Bismuth et P. Bossi, 2010**).

5. *S. aureus* résistant à la méticilline :

Les SARM ont une sensibilité très faible à l'ensemble des β -lactamines et sont fréquemment résistants à d'autres familles d'antibiotiques du fait de différents mécanismes génétiques de résistance souvent associés. Les SARM initialement décrits en milieu hospitalier au début des années 1960 ont plus tard été identifiés en ville, en particulier à l'occasion d'infections concernant des patients « à risque » de portage de SARM, comme ceux ayant été hospitalisés récemment. (Stephen et al. ,2006) .

Les *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) sont ceux ayant acquis une résistance chromosomique par le gène *mecA*, qui code pour une protéine de liaison à la pénicilline (PBP2a) ayant une affinité diminuée vis-à-vis des β -lactamine. Le gène *mecA* fait partie d'un matériel génétique mobile appelé staphylococcal cassette chromosome (SCC) *mec*, susceptible d'être transmis horizontalement d'une bactérie à une autre au sein d'une même espèce, mais aussi d'une espèce à une autre. (Stephen H. et al. ,2006) .

6. Physiopathologie des infections à *S. aureus* :**6.1. Les facteurs de virulences du *S. aureus*:**

S. aureus colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire (**figure1**). Il exerce ensuite son pouvoir pathogène qui est dû, à la synthèse de multiples facteurs de virulence. Elle se lie aux sites de lésions où s'accumulent les plaquettes et les fibrines (PFT). Après phagocytose par les cellules endothéliales, *S. aureus* secrète des enzymes protéolytiques qui vont faciliter la diffusion dans les tissus adjacents et le relargage de *S. aureus* dans le système vasculaire. Après phagocytose, les cellules endothéliales expriment des récepteurs Fc et des molécules d'adhésion et relarguent de l'IL-1, IL-6 et IL-8. Les leucocytes adhèrent aux cellules endothéliales, les macrophages et monocytes relarguent de l'IL-1, IL-6, IL-8 et TNF-alpha après phagocytose de *S. aureus*. (LOWY FD ,1998). Les facteurs de virulence sont de deux types : les protéines de surface et les facteurs de virulence solubles :

6.1.1. Les protéines de surface ou facteurs d'adhérences: Elles sont en majorité ancrées aux Peptidoglycane de la paroi bactérienne, et permettent la fixation de *S. aureus* aux cellules. Cinq protéines de surface ont été caractérisées au niveau moléculaire. (El Kouir , 2003) .

a- La Protéine A (Spa pour *staphylococcal protein A*): Classiquement connue pour être une protéine liant le fragment Fc des immunoglobulines G (IgG). C'est un facteur primordial à l'établissement des infections endo-vasculaires. (TASSEAU F. ,1989).

b- La protéine de liaison au collagène de type I, II et IV: Cette adhésine joue un rôle très important dans les infections ostéo-articulaires. (TASSEAU F. ,1989).

c- La protéine de liaison à la fibronectine: contribue à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques mais aussi aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Elle joue un rôle très important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers. (Boden, MK, Flock , 1989).

d- Les protéines de liaison au fibrinogène: Clumping factor (ClfA, ClfB): est un récepteur pour le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Cette adhésine joue un rôle dans les infections des plaies et les infections sur corps étranger. (Boden, MK, Flock ,1989).

e- La protéine de liaison à l'élastine (EbpS): une protéine transmembranaire de 25 kDa associée à la surface cellulaire. Elle se lie à la région N terminale de l'élastine qui est une région toujours libre. (Boden, MK, Flock ,1989).

6.1.2. Les facteurs de virulence solubles: pratiquement toutes les souches de *S. aureus* sont capables de sécréter, au cours de la phase stationnaire de croissance, un groupe d'enzymes et d'exotoxines, comprenant quatre hémolysines (alpha, bêta, gamma et delta), des nucléases, des protéases, des lipases, une hyaluronidase et une collagénase. En plus de ces protéines, certaines souches produisent une ou plusieurs exotoxines qui ciblent spécifiquement les molécules d'adhésion cellulaires et les systèmes immunitaires hôte. (Boden, MK, Flock , 1989).

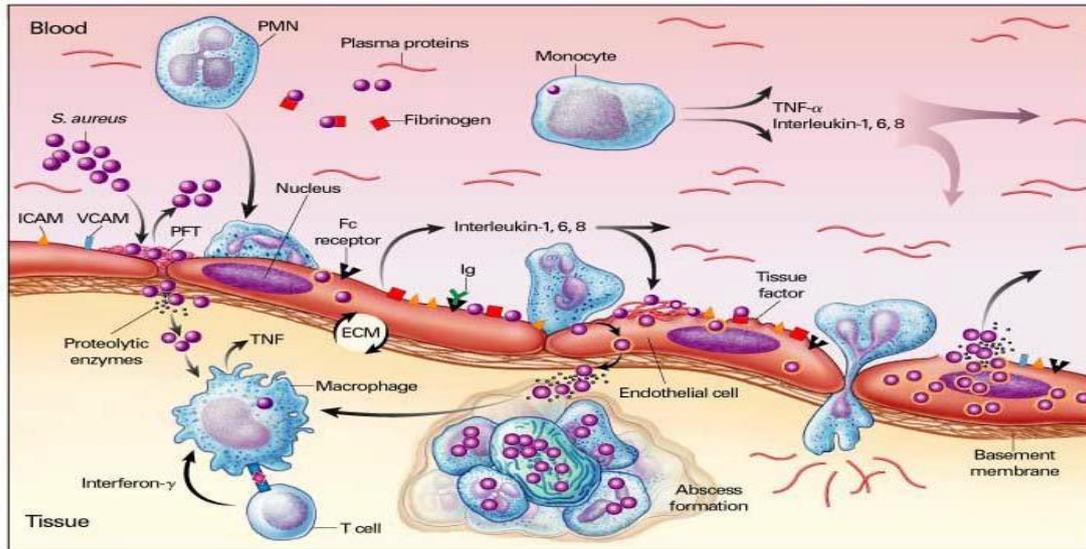


Figure 01 : Pouvoir pathogène d'invasion tissulaire par *S. aureus*(LOWY ,1998).

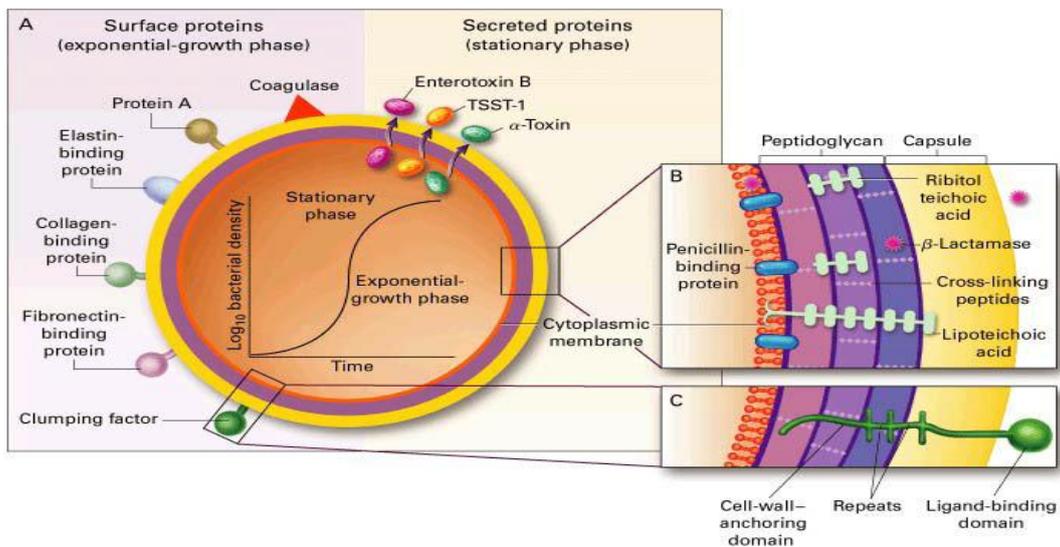


Figure 02 : Expression des facteurs de virulence du *S. aureus*(LOWY .FD ,1998).



Chapitre II

Les infections à S . aureus



1. Définition :

Les infections cutanées sont des agressions de la peau essentiellement d'origine bactérienne et plus particulièrement par les *Streptocoques* et les *Staphylocoques*. Habituellement, la couche superficielle de la peau, l'épiderme, est en mesure de résister à l'invasion de ces bactéries mais lorsqu'elle est blessée ou lésée, les germes peuvent y pénétrer et y trouver un milieu favorable à leur développement et multiplication. Des virus, des parasites ou des mycoses peuvent aussi être responsables de manifestations cutanées. (Pillou, 2013).

2. Épidémiologie :

Les infections cutanées sont très fréquentes chez l'enfant et demeurent l'une des principales raisons de consultation médicale. Il semble que les infections cutanées surviennent plus souvent l'été ; une période où la chaleur et l'humidité favorisent la croissance bactérienne. Les infections de la peau peuvent survenir sans lésion cutanée préexistante. Elles peuvent aussi survenir après une perte de l'intégrité de la peau qui constitue une porte d'entrée pour les bactéries, par exemple lors: d'une abrasion, une piqûre d'insecte, une varicelle ou dans le contexte d'une maladie de la peau telle que l'eczéma.

Lors d'une exposition de la peau à un environnement particulier, par exemple une morsure ou une blessure survenant dans un lac, des bactéries vivant dans cet environnement sont souvent responsables de l'infection. Les personnes immunodéprimées sont à risque d'infections par une grande variété de pathogènes, non seulement bactériens, mais aussi fongiques. (BEKKAR,2020)

3. Facteurs favorisant une infection bactérienne cutanée :

- Rupture de la barrière kératinocytaire Agression : pénétration des germes
- Facteurs favorisant associés : Chaleur, humidité, macération
- Modification de la flore : antiseptiques ou du film sébacé : détergents
- Altérations immunitaires: diabète, immunodépression
- Modification de l'équilibre de la flore avec statut permanent de germes plus «agressifs»
- Facteur d'hérédité.(ROGEAUX,2020).

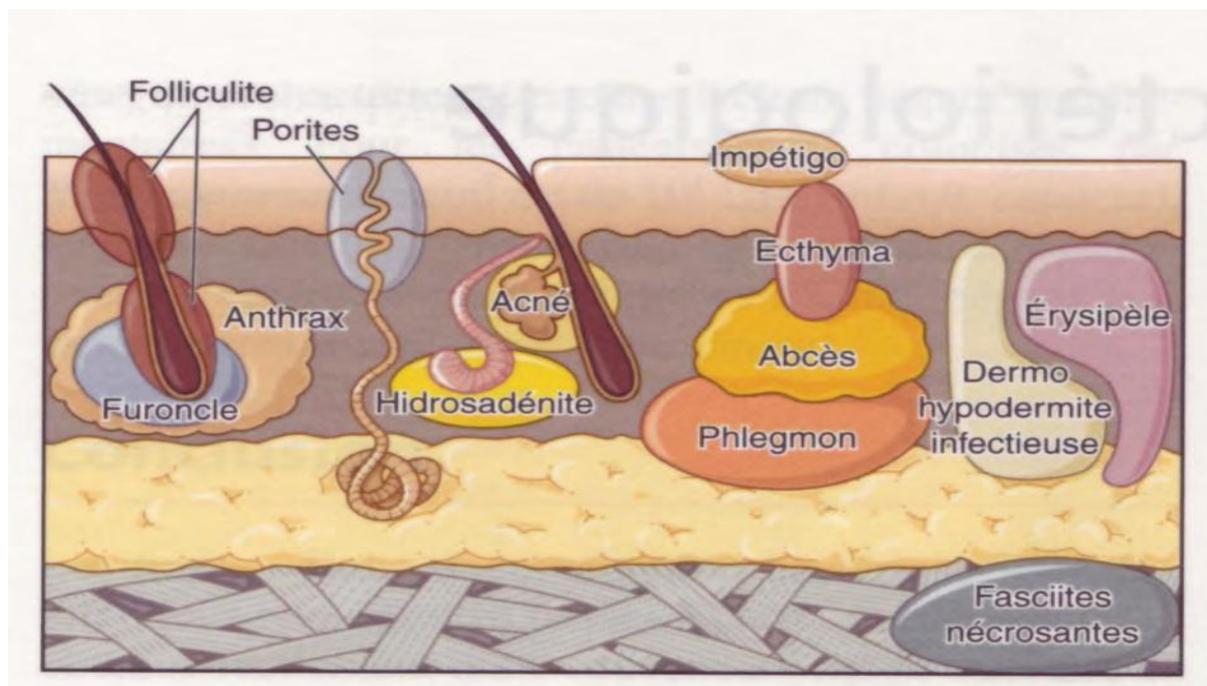


Figure03 : Localisation schématique des différentes Infections bactériennes de la peau (MAZEREEUW, 2006).

4. Les principaux agents étiologiques :

L'étiologie des infections cutanées dépend de la localisation et du type d'infection ainsi que du caractère primitif/secondaire et communautaire/nosocomial. Une grande diversité d'espèces bactériennes peut en être responsable. Concernant les infections cutanées bactériennes communautaires prises en charge en dermatologie de ville, une étude française menée en 2006 a identifié les bactéries en cause. Lorsqu'un micro-organisme était identifié (49% de cultures positives), les bactéries retrouvées étaient *Staphylococcus aureus* (57% des cas, dont 4% de souches résistantes à la méticilline, SARM), une entérobactérie (24%) ou un streptocoque (6%). Les infections cutanées primitives aiguës superficielles sont dues majoritairement à deux bactéries pyogènes : *S. aureus* et *Streptococcus pyogenes* (*Streptocoque* β -hémolytique A)

a- *S. aureus* est une bactérie ubiquitaire faisant partie de la flore habituelle et capable de persister dans l'environnement. La transmission est principalement interhumaine (contact direct, par les mains).. Le site de colonisation préférentiel est la muqueuse des fosses nasales antérieures : 20 à 30% des patients sains sont porteurs.

b- *S. pyogenes* est une bactérie ubiquitaire, strictement humaine, commensale de l'oropharynx chez 20% des enfants et 5% des adultes. La transmission est aérienne par contact rapproché avec un malade ou un porteur asymptomatique, ou par contact direct.

Certaines infections cutanées sont plus spécifiquement liées à un de ces deux pathogènes :

a. L'impétigo: est une infection à *S. aureus* (le plus souvent) et/ou *S. pyogenes*, isolés ou en association. On distingue classiquement l'impétigo bulleux *staphylococcique* de l'impétigo croûteux *streptococcique*.

b. L'ecthyma : est généralement dû à *S. pyogenes*.

c. La folliculite et le furoncle : sont des infections dues très majoritairement à *S. aureus*. Beaucoup plus rarement, d'autres micro-organismes peuvent être à l'origine de folliculites (bacilles Gram négatifs, levures, dermatophytes).

d. Les abcès cutanés : les panaris, les phlegmons des gaines tendineuses et l'hydrosadénite sont le plus souvent dû à *S. aureus*.

e. L'érysipèle : est une infection à streptocoque bêta-hémolytique

Les infections cutanées profondes, chroniques ou sévères sont généralement poly microbiennes avec une flore mixte aérobie et anaérobie. Notamment, concernant les dermo hypodermes bactériennes nécrosantes–fasciites nécrosantes (DHBN et fasciites nécrosantes), *S. pyogenes* est l'agent le plus fréquent, mais d'autres bactéries, seules ou en association, peuvent être en cause selon la porte d'entrée, le terrain et la localisation (association pluri microbienne mise en évidence dans 40 à 90% des cas).

Enfin, toute lésion cutanée (plaie traumatique, brûlure, incision chirurgicale, escarre, ulcère) ou dermatose aiguë ou chronique (eczéma, ectoparasitose...) peut se surinfecter et donner lieu à une infection cutanée secondaire. *S. aureus* et *S. pyogenes* sont le plus fréquemment en cause mais on peut également retrouver des entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* ou des anaérobies (PILLY,2018).

5. Les types des infections cutanées :

Les infections cutanées bactériennes sont des atteintes localisées, comparativement aux éruptions d'origine virale, comme la varicelle ou l'érythème infectieux, qui atteignent fréquemment toutes ou plusieurs régions du corps.

5.1.La cellulite : se manifeste par un érythème de la peau, généralement douloureux, le plus souvent localisé aux membres ou au visage. Un œdème y est fréquemment associé. La fièvre peut être présente ou non. Chez l'enfant, une forme particulière de cellulite peut survenir autour de l'anus, la cellulite péri anale. Elle peut être confondue avec une dermite de couches.

5.2.L'impétigo : se présente initialement sous forme de vésicules, de pustules ou parfois de bulles (impétigo bulleux), puis les lésions forment des croûtes ayant un aspect « mielleux ». Il est situé le plus souvent au visage, en particulier au pourtour de la bouche ou du nez, au menton ou derrière les oreilles. Il peut aussi atteindre le tronc, les fesses ou les mains.



Figure 04: impétigo bulleux (BENBOUABDELLAH S. *et* ZIANE D,2006)

5.3.La folliculite : se traduit par de petites papules, le plus souvent avec une pustule centrale, sans atteinte de la peau sous-jacente ni des tissus profonds.



Figure 05 : ostéo-folliculite (BENBOUABDELLAH S. et ZIANE D,2006)

5.4.L'abcès cutané : se présente sous forme de nodule ou de masse érythémateuse, parfois avec une pustule centrale. Il est généralement douloureux à la palpation. Un drainage spontané du pus peut survenir.

5.5.Le furoncle : a un aspect comparable à l'abcès, mais il provient d'un follicule pileux et est donc le plus souvent situé au visage, au cou, aux fesses, aux aines ou aux aisselles, alors que l'abcès n'a pas de localisation privilégiée.



Figure 06 : furoncle (BENBOUABDELLAH S. et ZIANE D,2006)

6. Modes de transmission :

Globalement, les infections cutanées ne se transmettent pas d'une personne à l'autre, mais les bactéries en cause peuvent se transmettre en présence d'impétigo ou de lésions purulentes (furoncle, abcès, plaie exsudative). De façon générale, les infections cutanées surviennent à la suite d'un contact avec la peau, des lésions cutanées purulentes, des sécrétions respiratoires ou de la salive, lors de :

- Contact direct ou indirect

- Auto-inoculation : l'infection survient lorsque l'agent infectieux est transféré par la personne d'un site de son corps à un autre. Par exemple, une personne peut surinfecter une lésion cutanée avec des bactéries déjà présentes sur sa peau ou dans sa gorge ou encore contaminer ses doigts au contact de la lésion initiale et causer des lésions ailleurs.

7. Prophylaxie et antibiothérapie des infections cutanées :

La prophylaxie repose sur l'application des mesures d'antisepsie et d'hygiène individuelle (traitement des lésions pouvant représenter une porte d'entrée à des infections plus graves) et collective (lutte contre les infections dans les hôpitaux, surveillance des cuisines).

Le portage manuel est la base de la transmission directe interhumaine des souches notamment en milieu hospitalier. Les staphylocoques et en particulier les SARM peuvent coloniser les patients et les membres du personnel soignant ayant un contact direct avec les patients.

Les SARM, du fait de leur multi résistance aux antibiotiques, sont répandus en milieu hospitalier et sont fréquemment responsables d'infections nosocomiales. Le personnel soignant contribue largement à leur dissémination lorsque les mesures d'hygiène et d'isolement ne sont pas respectées. L'isolement des patients porteurs de SARM, associé au respect permanent des mesures d'hygiène contribuent à la diminution de l'incidence de ces souches.

La détection de la colonisation à *S. aureus* associée à une décolonisation est de plus en plus préconisée en plus de l'antibioprophylaxie chez les patients devant subir une chirurgie orthopédique ou cardiaque. Enfin, des vaccins anti-staphylococciques sont en cours de développement (Gérard Lina¹ et al., 2015).

8. Le dépistage d'une infection cutanée à SARM :

il existe une définition permettant d'orienter vers le caractère communautaire d'une infection à SARM :

- L'infection est diagnostiquée chez un patient non hospitalisé ou hospitalisé moins de 48h.
- Le patient n'a pas d'antécédent d'infection ou de colonisation à SARM de profil hospitalier.
- Au cours de l'année qui précède le patient n'a pas des antécédents d'hospitalisations.
- Le patient n'est pas porteur d'un cathéter ou de tout autre matériel médical d'abord transcutané.

Il existe également des facteurs de risque d'infection à SARM qui sont mis en évidence dans diverses populations : le manque d'hygiène, l'origine étrangère, le contact avec des enfants ou des personnes ayant des antécédents d'infections cutanées, l'antibiothérapie dans l'année. Le caractère communautaire d'un SAMR peut donc être envisagé devant un faisceau d'arguments épidémiologiques, cliniques, bactériologiques (antibiogramme caractéristique d'une souche particulière) et génétiques (identification de la souche par électrophorèse en gel pulse ou séquençage de gènes de ménage). (Voilliot, 2012).

9. Traitement des infections cutanées à *S. aureus* :

L'antibiothérapie des infections à SARM repose sur les pénicillines M associées ou non à un aminoside. Par voie orale, les pénicillines M ont une mauvaise biodisponibilité et une demi-vie trop courte. En cas d'allergie aux pénicillines, les alternatives sont les fluoro-quinolones, les synergistines et les lincosamides. Les échecs de traitement sont liés à la virulence du germe, aux Comorbidités, à la présence de matériel étranger, à des foyers secondaires profonds ou à des posologies insuffisantes. (Hougardy N, 2006).

Le traitement de référence des infections à SARM repose sur les glycopeptides (vancomycine, téicoplanine) associés ou non à un autre anti-staphylococcique actif sur les SARM. L'émergence de souches GISA pourrait expliquer certains échecs thérapeutiques ou une réponse tardive aux glycopeptides. L'antibiothérapie d'une infection grave à GISA (*staphylococcus aureus* résistant la vancomycine) n'est pas codifiée. Elle nécessite des

posologies élevées de glycopeptides associées à la rifampicine ou la β cotrimoxazole ou le recours à de nouvelles molécules comme le linezolid.

Tableau 02 : Classement des antibiotiques anti-staphylococciques

<i>Classe</i>	<i>Molécules</i>
<p>Majeures</p> <p>β-lactamines anti-staphylococciques</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pénicilline M • Cephalosporines • Glycopeptides 	<ul style="list-style-type: none"> • Oxacilline, Cloxacilline • Céfazoline, céfamandole • Vancomycine*, Teicoplanine*
<p>Mineures</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aminosides • Rifampicine • Fluoroquinolones • Acide Fucidique • Fosfomycine • Lincosamides • Synergistines • Sulfamides 	<ul style="list-style-type: none"> • Gentamicine*, Tobramicine, Netilmicine • Rifampicine* • Ofloxacine, Ciprofloxacine • Acide fucidique* • Fosfomycine* • Clindamycine* • Pristinamycine* • Trimethoprim-sulfaméthoxazole*

*Actif sur les SARM selon antibiogramme

PARTIE
EXPERIMENTALE





Chapitre I

Matériels et méthodes



1. L'objectif d'étude:

Dans le but d'étudier la prévalence de *Staphylococcus aureus* responsables des infections cutanées dans la wilaya de Tébessa, Nous avons fixé les objectifs suivant :

- L'isolement et l'identification des *Staphylococcus aureus* à partir des prélèvements dermiques.
- Le profil de résistance des souches de *S. aureus* isolées.

2. Cadre de l'étude :

Durant la période allant de février au mois de Mars 2020, notre étude a été réalisé au niveau des établissements public hospitaliers dans différents services des hôpitaux de la wilaya de Tébessa pour la recherche des souches de *S. aureus* responsables des infections cutanées.

3. Prélèvements :

3.1. Prélèvement à partir des surfaces sèche :

Frotter les surfaces sèches avec des écouvillons stériles préalablement humidifiées avec l'eau physiologique stérile puis introduire dans des tubes contenant du bouillon nutritif 5 ml.

3.2. Prélèvement à partir des surfaces humides :

Frotter directement la surface avec l'écouvillon puis introduire ce dernier dans un tube contenant du bouillon nutritif.



Figure 07: Ecouvillon stérile utilisé pour le prélèvement nasal ou cutané

Tableau 03 : Dates et sites des prélèvements :

Numéro d'ech.	Date de prélèvement	Lieu	Nature	Sexe/Age
1	10.02.2020	Alia Saleh	Pus	H/ 40-50
2	10.02.2020	Alia Saleh	Pus	F
3	10.02.2020	Alia Saleh	Pus	H
4	06.02.2020	Chérai	Pus	H/ 30
5	09.02.2020	Chérai	Pus	H/ 30
6	11.02.2020	4 mars	Pus	NID
7	11.02.2020	4 mars	Pus	NID
8	11.02.2020	4 mars	Pus	NID
9	11.02.2020	4 mars	Pus	NID
10	11.02.2020	4 mars	Pus	NID
11	06.02.2020	Ghazouli	E.C.B.U	Enfant/
12	09.02.2020	Ghazouli	E.C.B.U	Enfant/
13	09.02.2020	Ghazouli	E.C.B.U	H
14	09.02.2020	Ghazouli	E.C.B.U	Enfant
15	08.02.2020	Ghazouli	E.C.B.U	H/ 35
16	18.02.2020	4mars	Pus	F/ 68
17	18.02.2020	4mars	Pus	F/ 42
18	18.02.2020	4mars	Pus	F/ 39
19	18.02.2020	4mars	Pus	F/ 29
20	18.01.2020	4mars	Pus	H
21	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
22	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
23	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
24	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
25	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
26	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
27	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
28	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
29	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
30	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
31	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
32	19.02.2020	Bekkaria	Pus	NID
33	10.02.2020	Labo Alamel	Urine	F/ 35
34	12.02.2020	Labo Alamel	spermoculture	H/ 31
35	16.02.2020	Labo Alamel	Urine	F/ 31
36	18.02.2020	Labo Alamel	Urine	H/ 36
37	18.02.2020	Labo Alamel	Pv	F/ 67
38	18.02.2020	Labo Alamel	Pus	F/ 25
39	18.02.2020	Alia saleh	Pus	H/ 41
40	01.03.2020	Bir el ater	Pus	H/ 21
41	01.03.2020	Cheria	Pus	H/ 30
42	01.03.2020	Cheria	Pus	F/ 34
43	01.03.2020	Cheria	Pus	H/ 16
44	08.03.2020	Bir el ater	Pus	H/ 63
45	08.03.2020	Bir el ater	Pus	H/ 53
46	08.03.2020	Cheria	Pus	H/ 84
47	08.03.2020	Cheria	Pus	F/ 70

3.3. Conditions de prélèvement :

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire de l'université dans les délais plus brefs, les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures pour l'apparition de trouble en bouillons nutritif puisensemencé directement.

4. Isolement :

A partir du milieu d'enrichissement, on aensemencé tous les échantillons sur milieu Chapman par la méthode de stries en surface. Les boites sont incubées ensuite à 37°C pendant 24heures.



Figure08 : Aspect morphologique des colonies du *S. aureus* en culture dans chapman.
(microbiologie médicale.fr)

5. Purification et conservation :

Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquage successifs en alternant milieu gélosé sélectif Chapman.(**Ross Jetal,1990**). puis conserver les souches au réfrigérateur à -4° C pour l'identification. (**E. Cosgrove et al., 2005**).

6. Identification :

L'identification comporte une série des étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé ; les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (la coloration de Gram, catalase et test de coagulase). Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.(**S. Cosgrove et al. ,2003**).

6.1.Examens macroscopiques : Sur le milieu Chapman, les colonies jaunes entourées d'une zone jaune, mannitol+ sont des *S. aureus* (**S. Cosgrove et al ,2003**).

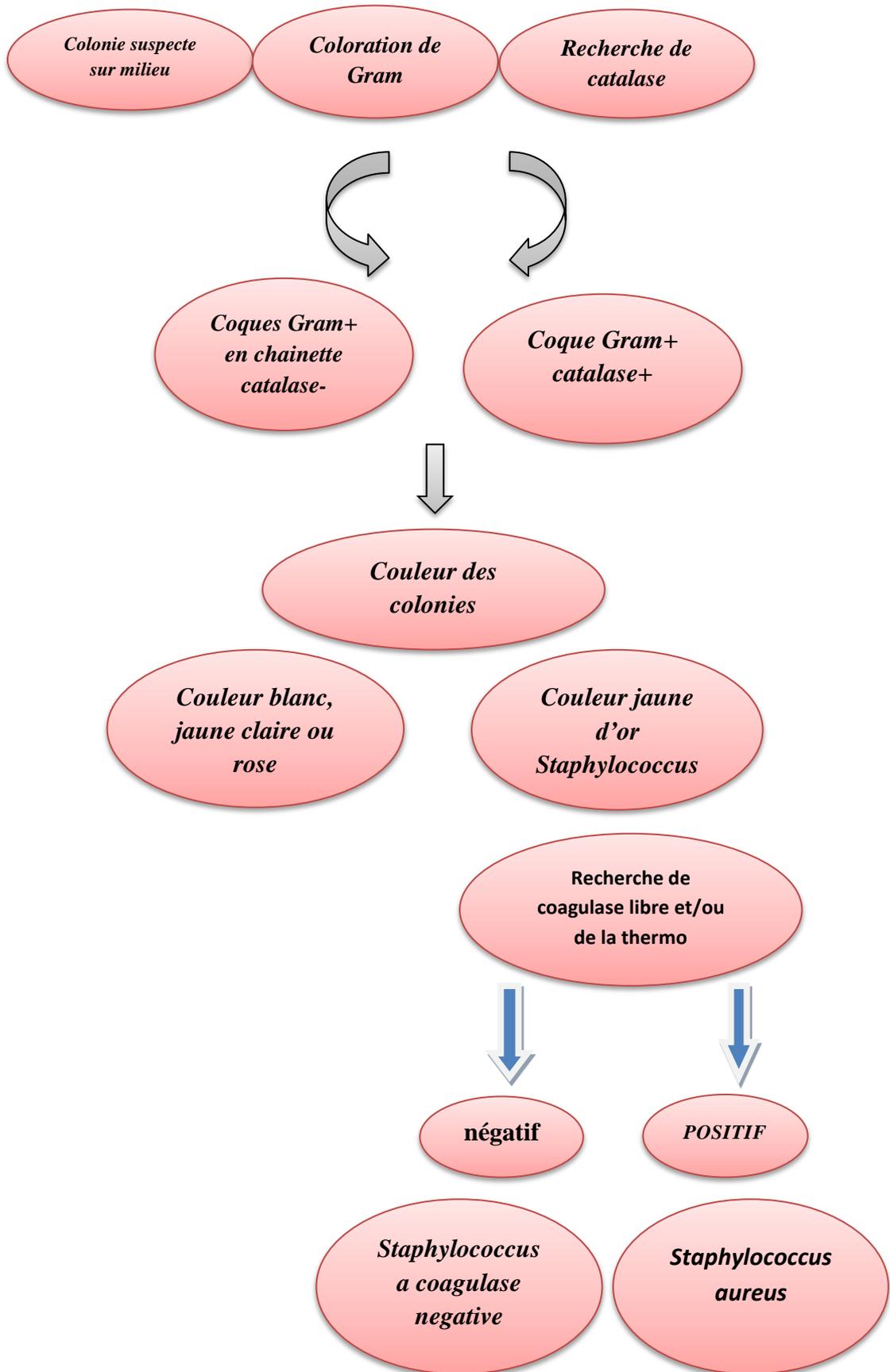


Figure 09 : Organigramme de l'identification de *Staphylococcus aureus*.

6.2. Examens microscopiques :

6.2.1. Coloration de Gram :

a- Principe: Le principe de la coloration de Gram repose sur les différences de composition chimique de la paroi des bactéries (1 à 2.5 % des lipides chez les bactéries à Gram positif, 10 à 22% chez les Gram négatif).(**Tortora J. et al.,2003**).

b- Technique

- On dépose sur une lame propre une goutte d'une suspension bactérienne;
- Faire sécher la lame par passage sur la flamme du bec benzène (fait un frotti);
- Poser des gouttes du colorant violet de Gentiane sur le frotti, laisser agir pendant 1minute, puis rincer la lame parfaitement par l'eau physiologique stérile.
- Recouvrir la lame une autre fois par le Lugol et laisser agir une minute puis rincer à l'eau physiologique stérile;
- Tenir la lame inclinée et faire couler pendant 30 secondes de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore, rincer immédiatement à l'eau physiologique stérile;
- Recolorer avec de la fuchsine pendant 1 min ; rincer a l'eau physiologique stérile et égoutter
- Égoutter entre 2 morceaux de papier buvard et laisser sécher;
- Observez avec une goutte d'huile à immersion à l'objectif X 100

c- Observation sous microscope :

- couleur rose représente les bactéries à Gram négatives
- couleur violet représente les bactéries à Gram positives
- on observe aussi la forme des cellules bactériennes (bacille, coccobacille, cocci, diplocoques,...).

6.3. Recherche de la catalase :

a. Principe: Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes H_2O_2 dont l'accumulation a un effet létal pour les bactéries. La catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 avec dégagement d' O_2) sous forme gazeuse. (Madian M. *et al.*, 2007).

b. Technique : A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

c. Lecture : La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d' O_2 .



Figure 10 : Test de Catalase positif

6.4. Recherche de la coagulase :

a. Principe : La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable ; la staphylo coagulase ou coagulase. Cette enzyme agit en liaison avec la prothrombine et en absence de calcium.

Parmi les *Staphylococcus*, pratiquement seul *S. aureus* possède la coagulase, certaines souches de *S. aureus* peuvent en être dépourvues (10 à 15 % en milieu hospitalier), la perte de la coagulase étant souvent reliée à un traitement d'antibiotique.

La recherche de la coagulase de *Staphylococcus* est compliquée par la présence d'un récepteur au fibrinogène provoquant l'agglutination de la souche placée dans un plasma oxalaté (on parle de coagulase « liée »).(Madian M. *et al.*,2007).

b. Technique :

- Réaliser une suspension bactérienne .
- biens agiter le tube qui contienne de la suspension bactérienne à l'aide de vortex.
- Mettre dans un tube à hémolyse 4 gouttes de bouillon agité et 4 gouttes de plasma humain oxalaté.
- Placer le tube au bain d'eau à 37°C durant 2 à 24h.

c. Lecture: Une coagulation pourra être observée par une prise en masse du liquide.

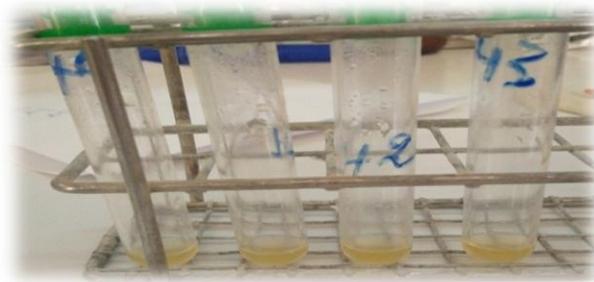


Figure 11 : test de coagulase positif

7. Antibiogramme des souches *S. aureus* :

a. Principe :

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion sur milieu gélosé selon les normes préconisées par le Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).(Gillet Y. *et al.* , 2002).

Tableau 04 :Antibiotiques testés pour les souches de *S. aureus*

Disque d'ATB utilisé	Abréviations	Concentration
Pénicilline	P	10 UI
Imipenème	IMP	10µg
Oxacilline	OX	1µg
Céfazoline	CTX	30µg
Streptomycine	S	30µg
Gentamicine	GEN	10µg
Tobramycine	TM	10µg
Erythromycine	E	15µg
Clindamycine	CD	2µg
Fosfomycine	FOS	50µg
Rifampicine	RIF	15µg
Clindamycine	CD	2µg
Vancomycine	VA	30µg

b. Technique :

- Repiquer une colonie à partir d'une culture pure développée de 18 heures sur un milieu d'isolement dans 10 ml de bouillon Coeur Cerveau (BHIB).
- Incuber à 37° C pendant 6 à 7 heures sous agitation.
- Grace à un colorimètre, mesurer la densité optique de l'inoculum et ajuster en ajoutant la culture s'il est très faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est très fort, la densité optique doit être entre 0.08 et 0.1 à 625 nm équivalente à 108UFC /ml (0,5 Mc Farland).
- Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité de l'inoculum, tremper un écouvillon dans cette suspension.
- Presser fermement contre la paroi intérieure du tube juste au-dessus du niveau du liquide, tourner l'écouvillon pour enlever le liquide excédentaire.
- Étaler à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application afin d'obtenir une distribution égale de l'inoculum.

- Appliquer les disques d'antibiotiques sur les boîtes de Pétri dès que possible à moins de 15 minutes après l'ensemencement à l'aide d'une pince stérile.

- Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 heures

c. Lecture et interprétation :

Mesurer avec précision les diamètres de chaque zone d'inhibition en mm, et classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

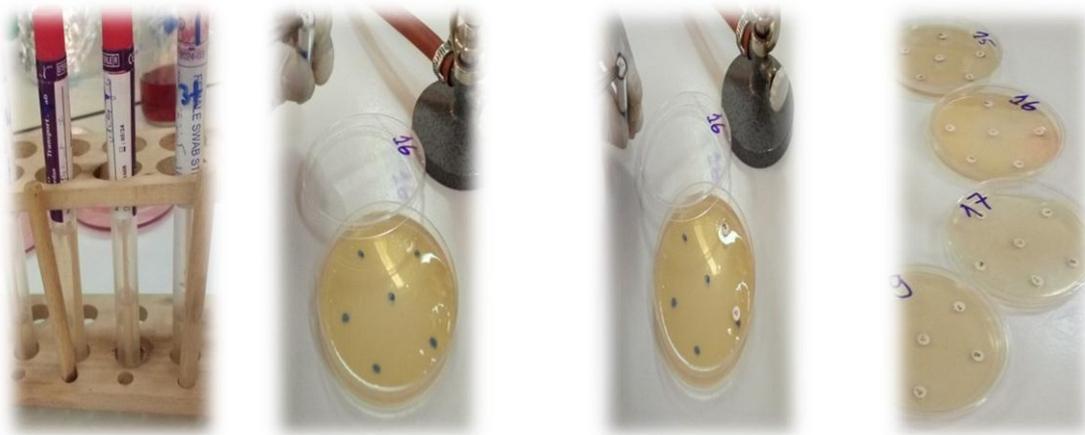


Figure 12 : Les étapes de l'antibiogramme.



Chapitre II

Résultats et discussion



1.Prélèvement: Dans cette étude, nous avons collectés 47 prélèvements entre le 18 janvier et le 08 mars 2020, à partir de plusieurs établissements public hospitaliers de différentes régions dans la wilaya de Tébessa. Parmi les 47 prélèvements on à **26%** de ces prélèvements collecté de l’hôpital Bouguerra Boulares (Bekaria),Suivi de **21 %** de prélèvements de la polyclinique **4 Mars**, **17%**Cheria, **13%** de prélèvements du laboratoire privé **Alamel**, **11%**de prélèvements du laboratoire privé **Ghazouli**,**8%** de prélèvements de **Alia Saleh** et enfin **4%** de **Bir El Ater**.

Tableau 05 : Répartition globale des prélèvements selon la région.

<i>Lieu</i>	<i>N° des échantillon</i>	<i>Pourcentage</i>
Alia Saleh	4	8 %
4 Mars	10	21%
Labo Alamel	6	13%
Labo Ghazouli	5	11%
Bekaria	12	26%
Cheria	8	17%
Bir el Ater	2	4%
Total	47	100%

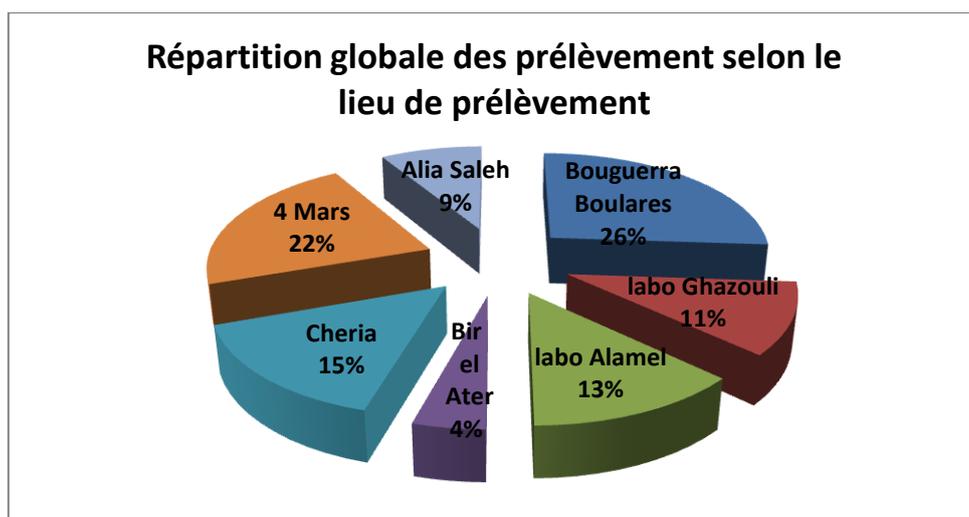


Figure13: Répartition globale des prélèvements selon le lieu de prélèvement

2. Isolement et identification:

Sur 47 prélèvements analysés, 42 ont été poussés sur milieu Chapman et gélose au sang cuit soit un pourcentage de 89%. Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur les différents milieux utilisés; Chapman et gélose au sang cuit montrent un développement bactérien. Ce taux de positivité est assez élevé, mais il faut noter que l'interprétation des résultats est parfois difficile. En effet, il n'est pas toujours aisé de distinguer entre la simple colonisation ou même la contamination d'une véritable infection.

2.1. Identification morphologique :

2.1.1. Examen macroscopique: Sur les deux milieux Chapman et gélose au sang cuit, les colonies présentent l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus*. Le développement bactérien sur Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (Entérocoques) peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, sinon les colonies sont de couleur blanches. Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 mm de diamètre après 24h/37°C. Sur gélose au sang cuit, les colonies ont une couleur blanche ou jaune pigmentée, d'un diamètre variant entre 1 à 3 mm de diamètre, après 24h/ 37°C.

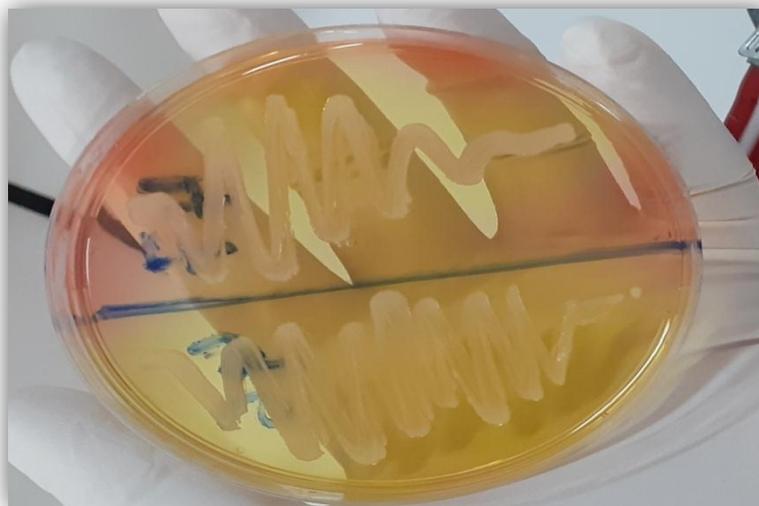


Figure 14: Aspect des colonies de *Staphylococcus* isolées sur Chapman



Figure 15 :Aspect des colonies de *Staphylococcus* isolées sur gélose au sang.

2.1.2. Examen microscopique: La coloration de Gram pour les souches isolées met en évidence des cocci sphériques, en grappe de raisin ou en paires, colorés en violet, dont on trouve les 42souches sont à Gram positive, soit un pourcentage de 100%des isolats.

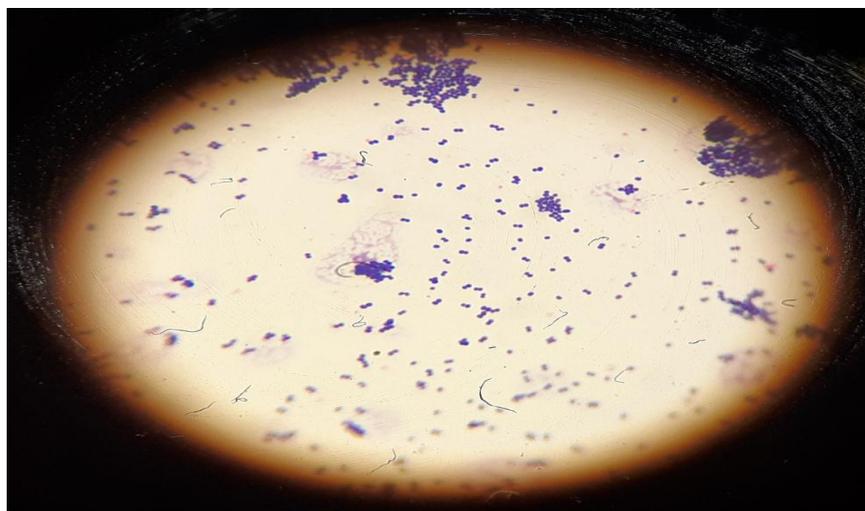


Figure 16: Coloration de Gram.

2.2. Identification biochimique :

2.2.1 Catalase: Le test de catalase montre une apparition des bulles avec dégagement de dioxygènes produits par une colonie mise en contact avec l'eau oxygénée. dont on trouve 42 souches à catalase positif par rapport au nombre d'isolats donc 100%.



Figure 17: Test de catalase.

2.2.2. Coagulase: Les cocci à Gram positif, catalase positive, testés pour la production d'une coagulase, présentent un phénotype variable, dont on trouve 36/42 des isolats à coagulase positif avec un pourcentage de 85.71%.

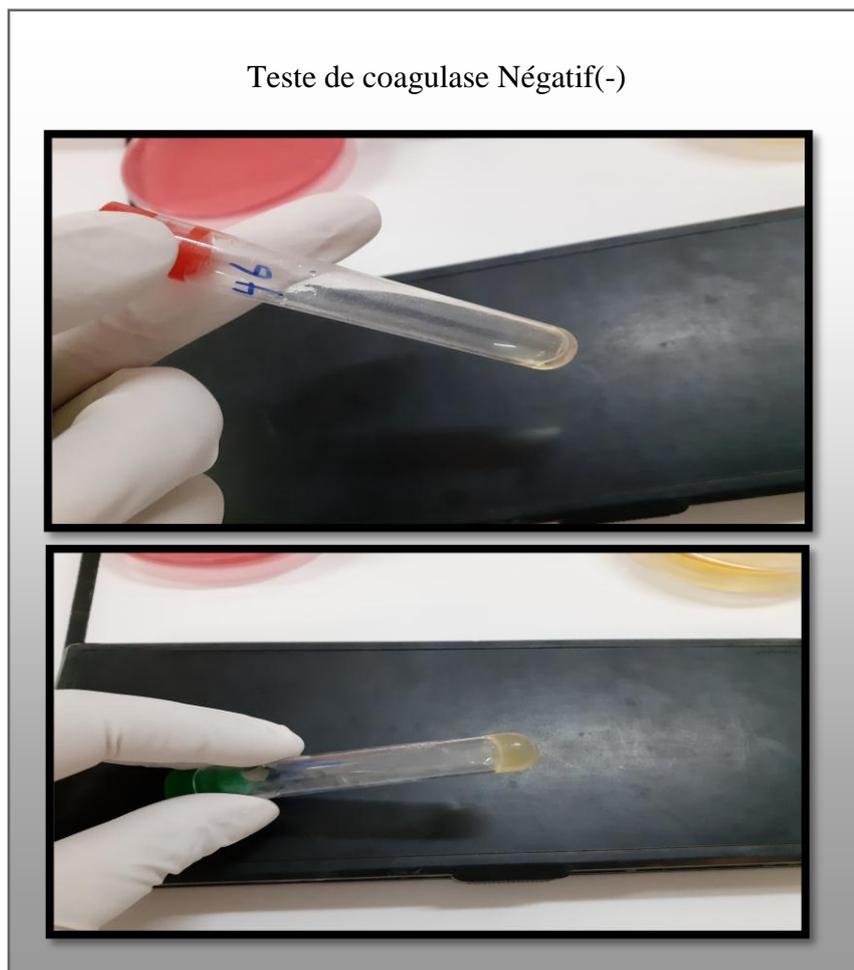


Figure 18 :test de coagulase libre

Tableau 06 : Résultats de pré-identification par les techniques microbiologiques standards.

Caractères principaux		Coloration de Gram	Test catalase	Test coagulase
Souches	positive	42 Cocci Gram positif	42	36
	négative	00	00	06

Selon **David**, 2010 divers enzymes peuvent être mises en évidence chez *S.aureus* tel que : la catalase qui existé chez tous les *Micrococacceae*. Mais la présence d'une coagulase identifie en pratique courante l'espèce aureus, donc nos résultats corroborent à ceux obtenu dans les tests d'identifications biochimique.

3. Répartitions des espèces selon la production de coagulase :

L'identification des 47 prélèvements effectués à donner : 36 *S.aureus*, 06 Staphylocoque à coagulase négative, et 05 espèces non identifiés.

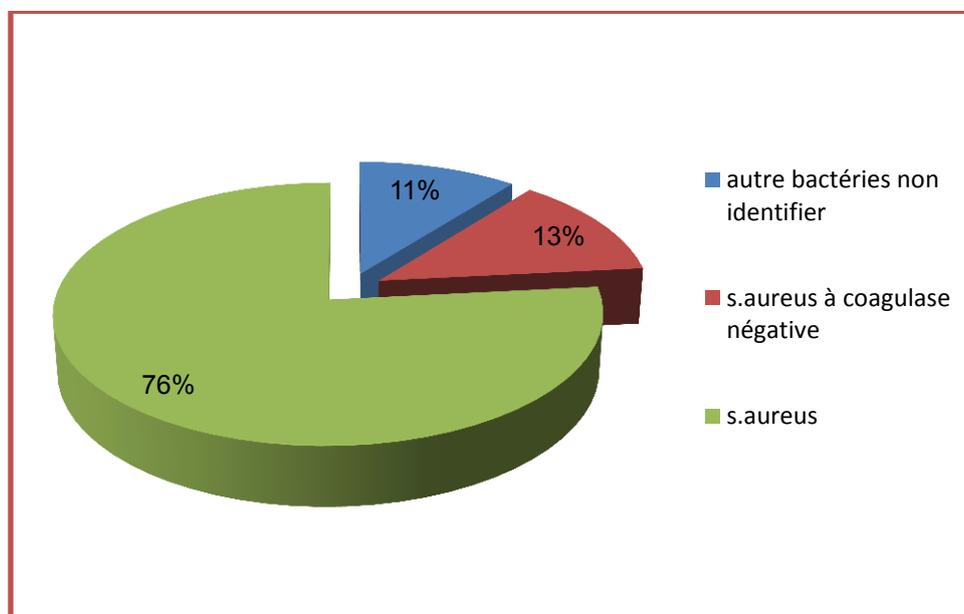


Figure 19: Répartition des souches selon leur production de coagulase.

4. Fréquence d'isolement de *S. aureus* :

Sur les 42 isolats appartenant à la culture positive, 36 souches pures ont été identifiées comme *S.aureus* par la mise en évidence de test de la coagulase libre. Ce qui représente un taux de 86% sur l'ensemble des souches des Staphylocoques isolées (36/42), et 76% sur la totalité des prélèvements testés et identifiés (36/47).

Tableau 07 : Fréquence d'isolement de *S. aureus*

Echantillons	Culture positive	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>S. aureus</i>
47	42	06	36
100	89%	13%	76%

5. Enquête épidémiologique :

La prévalence des *S. aureus* responsable des infections cutanées varie en fonction de différents paramètres:

- Le sexe
- L'âge
- L'état de malade
- La nature de prélèvement

5.1. Le sexe: Parmi les 36 malades inclus dans notre étude, on a **10** hommes avec un pourcentage de **28%**, **09** femmes avec un pourcentage de **25%** et enfin **17** personnes de sexe non identifiés (NID) dont le taux est de **47%**.



Figure 20: Répartition des prélèvements selon le sexe.

5.2.L'âge: L'âge de la population cible étudiée était différents. Parmi les 36 malades inclus dans notre étude, on a **15 (42%)** sont des adultes, **03 (08%)** sont des enfants et **18 (50%)** sont non identifiés (**NID**).

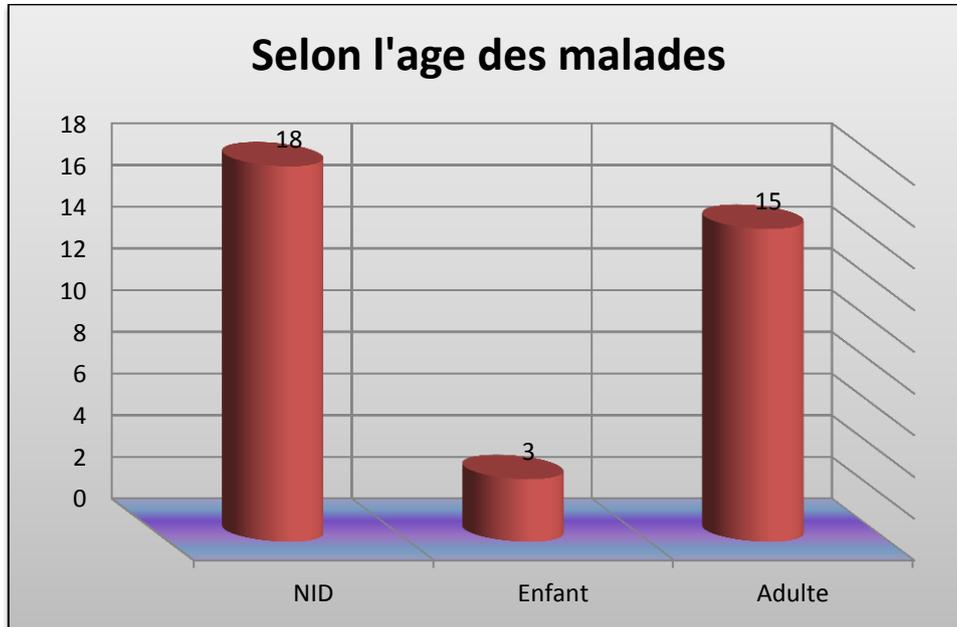


Figure 21 : Répartition des prélèvements selon l'âge.

5.3 L'état de malade: Parmi les 36 malades inclus dans notre étude, on avait **15 (42%)** sont des malades ambulatoires (**Externes**) et **21 (58%)** sont hospitalisés (**Internes**).



Figure 22: Répartition des prélèvements selon l'état de malade.

5.4 La nature de prélèvement : 27 (75%) prélèvements de pus, **08 (22%)** à partir des urines (**ECBU et urines**) , et une souche (**3%**) à partir d'un spermoculture.

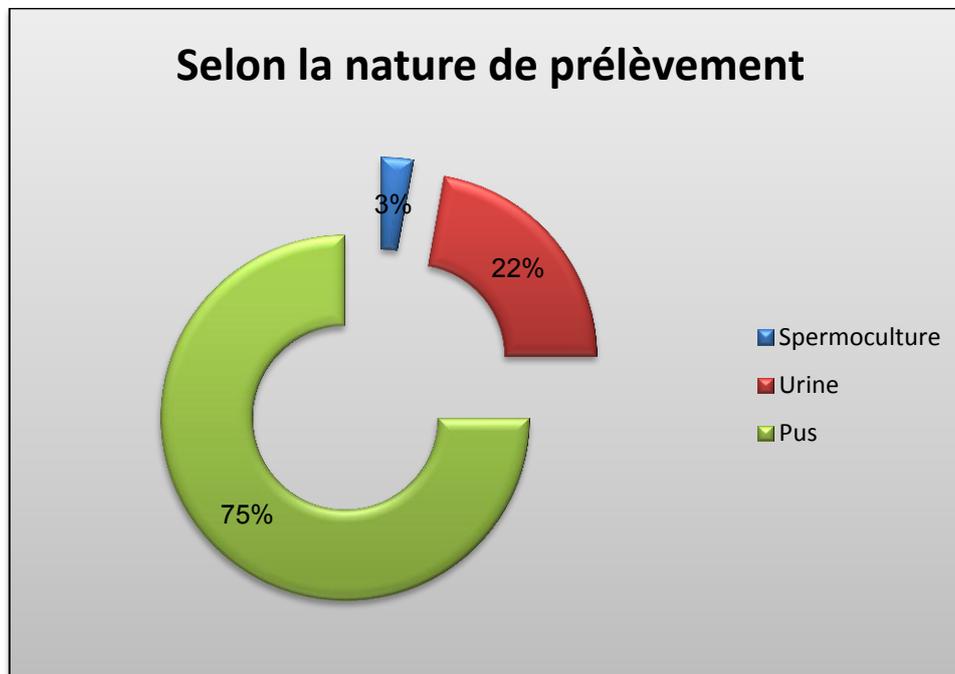


Figure 23: Répartition selon la nature de prélèvement

6. Résistance aux antibiotiques :

6.1 Niveau de résistance des *S. aureus* responsables d'infection cutanée :

Un antibiogramme a été réalisé sur les 36 souches de *S. aureus* préalablement isolées et identifiées. Etant donné leurs phénotypes de résistance très différents, les fréquences de résistances pour chaque antibiotique testés ont été calculées et représentées dans la figure ci-dessous.

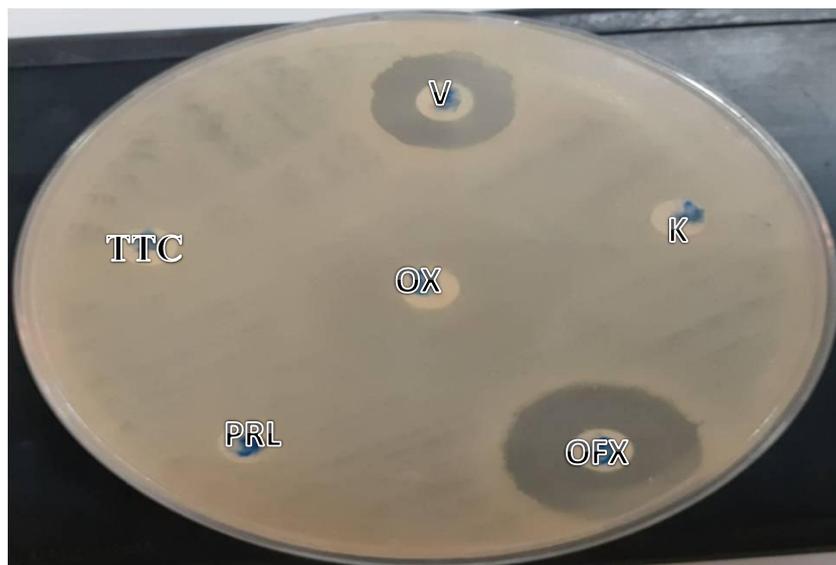


Figure 24 : Antibiogramme d'une souche *S. aureus*

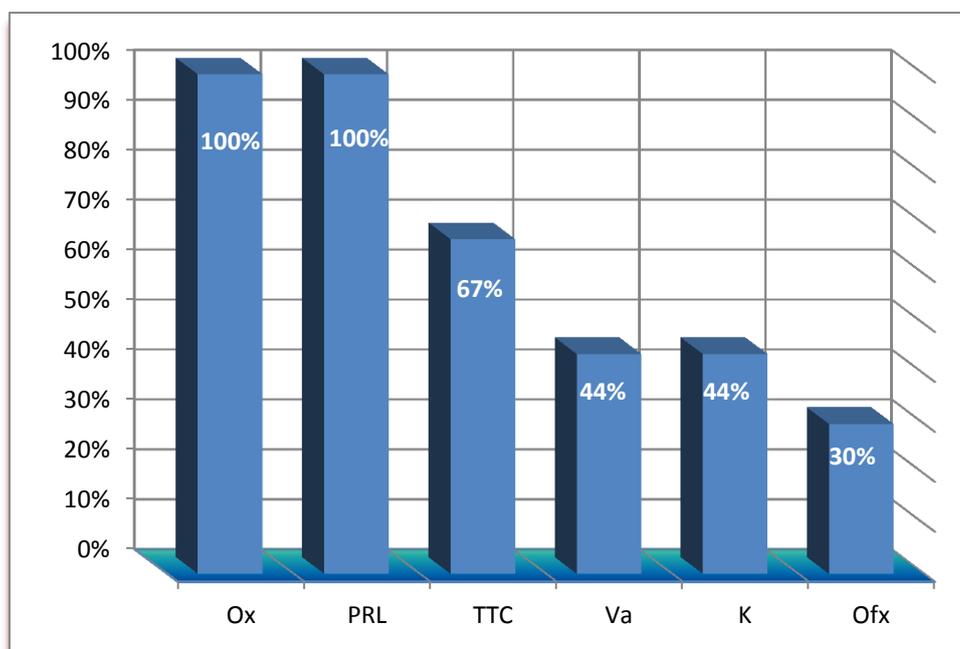


Figure 25 : Pourcentage de résistance des *S. aureus* isolées.

Les résultats portés sur la figure ci-dessus montrent que les souches isolées des *Staphylocoques aureus* présentent une résistances à **100%** à l'**oxaciline (Ox)** et à la **Pipiraciline (PRL)**, et une résistance de **67%** à la **Tétracycline (TTC)**. Pour la **Vancomycine (V)** et la **Kanamycine (K)**, le taux de résistance est **moindre de 44%**. Enfin pour l'**Oflaxacine (Ofx)** la résistance est noté **par 30%**.

Discussion générale



Discussion

Notre étude est la première réalisée dans notre faculté pour dépister la prévalence des *S. aureus* responsables des infections cutanées dans la wilaya de Tébessa. Toutes les études déjà réalisées et qui visaient la recherche de ce germe, étaient orientées vers l'incidence des *Staphylococcus aureus* hospitaliers ou bien communautaires.

Nous avons choisi les populations atteintes de différentes infections cutanées pour réaliser cette étude parce que le *S. aureus* est l'un des germes pathogènes humains les plus responsables de multiples maladies infectieuses dermatiques. (Sabrina J. *et al.*,2014)

1.Répartition globale des prélèvements selon le lieu de prélèvement

Sur un total de 47 prélèvements ; on a observé une dominance des prélèvements dans l'hôpital **Bouguerra Boulares** (Bekaria) avec un pourcentage de 26% ce qui exprime que la prévalence des infections cutanées est augmentée au niveau du milieu hospitalier dont l'origine la plus possible de ces infections est nosocomiale.

2.Répartition des espèces selon la production de coagulase:

Les résultats dans notre étude montrent que le principal agent causal des infections cutanées est le *S. aureus* avec un pourcentage de **76%** ; ce qui corrobore avec l'étude de **Abaidia N., Madhbouh et Menaceur (2019)** qui ont trouvé une fréquence de 67% de *S. aureus* responsables des infections nosocomiales, une autre étude de **Dvido B. (2010)** en France qui a trouvé un taux de 82%. Les résultats obtenus par **Azzouzi F. (2018)** au Maroc ont un pourcentage de 83% des malades atteints des infections cutanées des *S. aureus*.

3.Répartition des prélèvements selon le sexe

Parmi les facteurs liés sincèrement aux patients ; **le sexe**, dont la majorité des études ont trouvé que le taux des *S. aureus* est plus élevé chez les hommes que chez les femmes. Pour notre étude est la même dominance avec 28% des hommes et 25% des femmes. Ce qui est contre l'étude de **Dvido B.(2010)** qui a trouvé un pourcentage de sexe féminin de 60% et 40% pour le sexe masculin.

Discussion

A ce jour, il n'y a pas d'étude qui stipule que le sexe peut être un facteur de risque. Le sexe masculin n'est pas considéré comme facteur de risque important pour l'ISO (organisation internationale de normalisation) en général (**Kluytmans J., 1997**)

4. Répartition des prélèvements selon l'âge

Les personnes âgées étant particulièrement exposées au risque infectieux (**Francioli P. et al., 1996**, **Chadli M. et al., 2005**). Dans notre étude on a trouvé une prévalence plus élevée aux personnes âgées ; avec un taux de 42% pour les adultes et 8% pour les enfants, ce qui corrobore avec les résultats obtenus par **Dvido B.** (2010) en France qui a trouvé un pourcentage de 100% des porteurs de *S. aureus* chez les adultes.

Donc, ces résultats affirment que l'âge avancé est lié à l'apparition des maladies chroniques comme le diabète ; qui crée des altérations immunitaires et rend l'organisme susceptible à la colonisation des *S. aureus* ou bien d'autres bactéries.

5. Répartition des prélèvements selon l'état de malade

Pour que notre étude, on a trouvé que la majorité des malades atteints des infections cutanées due aux *S. aureus* sont hospitalisés ; ceci peut être une cause d'une infection nosocomiale ou bien une infection acquise dans la communauté chez les patients qui n'ont aucune relation avec les milieux hospitaliers. Alors la transmission des *S. aureus* en milieu communautaire pourrait intervenir lors des soins à domicile ou au cabinet des médecins de ville.

6. Répartition selon la nature de prélèvement

Nos souches sont retrouvées essentiellement dans les prélèvements de pus avec un pourcentage de 75% ; ce qui prouve que la plupart des infections purulentes sont dus au *S. aureus* et ce qui s'accorde avec les résultats d' **Abaidia, Madhbouh et Menaceur, 2019** qui ont trouvé 64% et même pour **Gorwitz R.J. et al., 2006**.

Pour les urines (22%), ce taux s'explique par la prolifération importante des entérobactéries dans les infections urinaires. **Abaidia N., Madhbouh et Menaceur (2019)**

7. Résistance aux antibiotiques

La connaissance et la surveillance du profil de sensibilité des souches de *S.aureus* sont primordiales dans la prise en charge des infections générées par cette espèce bactérienne, ainsi que la maîtrise de leur diffusion clonale. (Elhamzaoui *et al.*, 2009).

D'après l'analyse des histogrammes qui représentent le pourcentage de résistance des *S. aureus* isolées aux antibiotiques testés et selon Siegel *et al.*(2007), les bactéries multi résistantes se définissent comme des bactéries qui résistent à une ou plusieurs classes d'antibiotiques. D'autres auteurs rapportent qu'il n'existe pas de définition de la multi résistance universellement acceptée, et qualifient un microorganisme de multi résistant, lorsqu'il résiste à au moins trois molécules d'antibiotiques. L'accumulation de plusieurs mécanismes de résistance vis-à-vis différentes molécules d'antibiotiques pourrait être l'origine de la multi résistance (Schwarz *et al.*,2010).

•**Bêtalactamines** : Nos souches sont totalement résistantes à l'oxaciline (Ox) 100% et à la piperaciline (PRL) 100%,Và cause de leur production de pénicillinase. Chez les *S.aureus*, l'émergence de résistance aux antibiotiques peut être considérée comme une série de vagues de résistances.(Chambers HF. *et al.*, 2009)

la première vague correspond à l'introduction de la pénicilline dans les années 1940 et à l'apparition quelque années plus tard de souches résistantes produisant des enzymes, les pénicillinase, qu' inactivent la pénicilline G et les pénicillines à spectre étendu (pénicillinases A) telle que l'ampicilline l'amoxicilline ou la piperaciline. Dans nos jours plus de 90% des souches de *S.aureus* produisent une pénicillinase(Lowy FD.,1998)

•**Les Tétracyclines** : *S.aureus* possèdent une résistance importante au tétracycline (TTC)environ 67% ; qui est un pourcentage très élevé ainsi que périlleux lorsqu'on compare avec ceux obtenue par AzzouziF. (2018) en Maroc qui est nul avec la tétracycline. ce qui est expliqué par le développement crier par cette espèce bactérienne aux niveau de leur mécanisme de résistance contre ce type d'antibiotique.

•**Les Aminosides**:L'analyse des résultats de la résistance à la kanamycine (Ka) note un pourcentage de 44% qui est une valeur moyenne due à la production par les *Staphylocoques aureus* d'enzymes modificatrices des aminosides, codées par des gènes acquis plasmidiques ou transposables.

Discussion

•**Les Glycopeptides** :la résistance à la vancomycine (V) avec un pourcentage de résistance égale à ce qui noté pour la Kanamycine environ 44%. Cette résistance à ce type d'antibiotique est non souhaitable, car il reste le traitement de référence des infections sévères due à ce genre de bactéries.

•**Fluroquinolones**: on note une faible résistance des souche de *S. aureus* à l'oflaxacine (Ofx)avec une pourcentage de 30% .Cette résistance au fluroquinolones chez *S. aureus* est due à des mutations chromosomiques spontanées induisant une surexpression des protéines permettant l'expulsion de l'antibiotique hors de la bactérie ou une modification de la topo isomérase empêchant les fluroquinolones de se fixé sur leur cible.(Lowy FD.,2003)

Discussion générale

A l'aide des résultats obtenus dans notre étude sur la prévalence des *S. aureus* responsable des infections cutanées qui est augmenté aux niveau du milieu hospitalier dans notre wilaya montre que la majorité des infections cutanées sont due principalement par les *S. aureus* qui cause des infections purulentes transmissibles atteint notamment les personnes âgées dont l'origine le plus possible de ces infections est nosocomiale ou acquise dans la communauté. Chez les patients qui n'ont aucune relation avec les milieux hospitaliers alors la transmission des *S. aureus* en milieu communautaire pourrait intervenir lors des soins à domicile ou au cabinet des médecins de ville.

Staphylococcus aureus a un fort pouvoir adaptatif, il a développé différents mécanismes de résistances aux anti staphylococciques. montrent que nos souches isolées des *Staphylocoques aureus* présentent des résistances importantes aux bétalactamines de 100%. Quant aux quinolones 30%, dont le taux le plus important a été observé pour l'oxaciline et le pipiraciline avec (100%) , et avec une résistance intermédiaire vis à vis les autres antibiotiques testés que ce soit contre la tétracycline avec 67% ,les aminosides , les glycopeptides avec un taux de résistance moindre de 44%.

aucune souche de *S. aureus* était sensible à tous les antibiotiques testés, alors que 6/36 (17 %) était résistante à tous les antibiotiques testés et 18/36 (50%) souches sont résistantes pour au moins à trois d'entre eux ce qui est entrainé le phénomène d'apparition de souches multi résistantes en ville et devenir un problème dangereux dans notre wilaya aux cours des années prochaines.

Conclusion



Conclusion

La prévalence des *S. aureus* constitue un problème majeur pour la santé publique à l'échelle mondiale, aussi que l'apparition du phénomène de la multi résistance chez ces bactéries qui fait compliqué l'état des malades ainsi que la limite des choix thérapeutiques.

La majorité des infections cutanées rencontrées sont essentiellement d'origine bactérienne, plus spécifiquement Staphylococcique dont l'espèce le plus fréquent est le *S. aureus*.

L'objectif de notre travail a été la recherche et l'identification des *S. aureus* isolées de divers prélèvements dermiques et leur résistance par rapport à différentes familles d'antibiotiques. D'après l'analyse des résultats de nos souches, nous avons trouvé que la plus part des infections cutanées sont causés par les *S. aureus* qui atteint notamment les personnes âgées dont l'origine le plus possible de ces infections est nosocomiale ou acquise dans la communauté. Chez les patients qui n'ont aucune relation avec les milieux hospitaliers alors la transmission en milieu communautaire pourrait intervenir lors des soins à domicile ou au cabinet des médecins de ville.

Les souches isolées des *Staphylocoques aureus* sont résistantes à la plupart des antibiotiques testés, particulièrement la résistance des souches été observé pour les antibiotiques appartenant à la famille des β lactamines (Oxaciline et Pipiraciline) ,aussi une résistance intermédiaire pour les tétracyclines (Tétracycline), les aminosides (Kanamycine), et les glycopeptides (Vancomycine) et enfin une résistance faible est noté aux quinolones (Ofloxacin)

Cette étude montre une apparition de phénomène de multi résistance dans notre wilaya de cette bactérie pathogène.

Nos résultats obtenus restent préliminaires et maintient d'être exploiter et compléter pour cela, nos perspectives sont :

- Etudier une population plus importante dans une période plus longue pour décrire une prévalence élargi des infections cutanées due aux *S. aureus*.
- Il est nécessaire d'utiliser des méthodes de détection moléculaire car les méthodes classiques de détection sont lentes, souvent prendre jusqu'à 72 heures pour confirmer la présence de *S. aureus*.

Conclusion

- Des études sont nécessaires également pour minimiser le risque contagieux de ce germe c'est-à-dire la transmission et les méthodes de lutte contre la propagations des infections cutanées à Staphylocoques

RECOMMENDATIONS



RECOMMANDATIONS

A l'issue de cette étude, nous espérons faire passer quelques recommandations :

☒ *Staphylococcus aureus* est un germe plus fréquent en milieu hospitalier aussi il a un fort pouvoir adaptatif, qui est due à son développement des différents mécanismes de résistances aux anti staphylococciques, qui permet à lui d'entraîné le phénomène d'apparition de souches multi résistantes en ville et devenir un problème dangereux dans notre wilaya aux cours des années prochaines.

☒ Il est absolument nécessaire de limiter la diffusion de ces souches afin de prévenir la survenue d'épidémies à germes multi résistants, pour cela, il semble nécessaire de :

-Surveiller régulièrement l'état de sensibilité du *S. aureus* au niveau des établissements hospitaliers soit chez les malades hospitalisés ou en consultation externe,

-Réaliser des enquêtes de dépistage même au niveau des établissements non hospitaliers où les taux de transmission peuvent être élevés : écoles, établissements médico-sociaux et garderies,

-Il est aussi nécessaire de respecter quelques mesures d'hygiène afin de limiter la diffusion de ces souches si elles existaient :

-Organiser des campagnes d'information et d'éducation aux bonnes pratiques d'hygiène de base particulièrement dans les collectivités (sportifs, enfants, prisonniers...) où la promiscuité augmente considérablement le risque,

☒ Hygiène corporelle :

– Toilette au moins journalière avec un savon liquide,

– Séchage avec une serviette individuelle propre et sèche,

– Prendre des douches surtout après activité physique intense ou sport,

– Ne pas partager le linge, les serviettes de toilette ou les objets personnels comme rasoirs, brosses à dents, déodorants et brosses.

☒ Hygiène de l'environnement : les locaux personnels ou collectifs

-*S. aureus*, résistant ou non à la Méricilline, peut survivre quelques jours dans l'environnement et constituer ainsi un réservoir potentiel de germe.

RECOMMANDATIONS

☒ Lésions cutanées

- Nettoyer et désinfecter toute plaie dès son apparition,
 - Recouvrir les lésions avec un pansement propre et sec,
 - Changer le pansement,
 - Réaliser un lavage des mains après tout contact avec une lésion cutanée.
-
- ☒ Il est aussi nécessaire de créer un centre de Bactério vigilance pour notifier les cas de SARM Communautaire pour éviter des épidémies dans les collectivités (Ecoles, milieux sportifs, milieu carcéral,...).
 - ☒ Veiller à bien peser les risques et les bénéfices de chaque utilisation d'antibiotique. Alors, il faut la bonne indication et le bon usage de ces molécules afin de limiter l'émergence de souches multi résistantes.

Références

Bibliographiques



Références Bibliographiques

A

Abaidia N., Madhbouh Ch., Menaceur A., (2019). Etude de la différence de l'antibio-résistance entre SARM nosocomial et SARM acquis en communauté (SARM –Ac). mémoire de master :Microbiologie appliquée. Tébessa: Université de Larbi Tébessi,108p.

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(en ligne). Thèse de Doctorat en médecine :Médecine. Marrakech: Université Cadi Ayyad,132p. Disponible sur:https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2018/these23918.pdf&ved=2ahUKEwjP_pna1pAhUqx4UKHcmVC3UQFjAAegQIBBAB&usg=AOvVaw2u-GOFDJlgiFSosKVv0Quv (page consulter le02/02/2020).

www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2018/these23918.pdf&ved=2ahUKEwjP_pna1pAhUqx4UKHcmVC3UQFjAAegQIBBAB&usg=AOvVaw2u-GOFDJlgiFSosKVv0Quv (page consulter le02/02/2020).

B

BEKKAR (2020). Service de Pédiatrie A Marfan Enseignement des externes en médecine 5e année Module de Pédiatrie. Disponible sur : <http://www.google.fr/search?hl=fr>

BENBOUABDELLAH S. et ZIANE D. (2006). Prévalence de souches de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru et les produits laitiers artisanaux. Mémoire de fin d'études Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques Département de Biochimie et Microbiologie.45-46-47P.

Boden MK. and Flock JI. (1989) Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus*. Infect Immun. 57 (8), p2358-2363.

C

Chadli M., Rtabi N., Alkandry S., Koek J.L, Buisson Y. et al. (2005) Incidence des infections du site opératoire étude prospective à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed-V de Rabat, Maroc. Médecine et maladies infectieuses, Vol 35 - N° 4 : 218-222.

Chambers HF., Deleo FR.(2009) Waves of resistance : *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era .Nat Rev Microbiol ,7:629-41.

Cosgrove S E,Youlin Qi, Keith SK , Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y.,(2005).The impact of methicillin resistance *S. aureus* bacteremia on patient outcomes : mortality, length of stay and hospital charges. Infect Control Hosp Epidemiol; 26(2):166-174.

Références Bibliographiques

D

David MZ., Daum RS.(2010). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin Microbiol Rev;23:616–87. doi:10.1128/CMR.00081-09.

Davido B.(2010).Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à Staphylocoque doré. Thèse de doctorat en médecine: Médecine. Paris: Université Denis Diderot (Paris VII),61p.

Dinges MM., Orwin PM., Schlievert PM.(2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin .Microbiol Rev,13(1): 16-34, table of contents.DOI:10.1128/CMR13.1.16.34.

E

Elhamzaoui S., Benouda A., Allali F., Abouqual R., Elouennass M., (2009). Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated in two university hospitals in Rabat, Morocco. Med Mal Infect. 39:891-895.

El Kouir D. P.(2003). Infections à Staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC, maladies infectieuses, [8-007-A-10].

F

F. Caby , R. Bismuth., P. Bossi.(2010). Infections à staphylocoques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Traité de Médecine Akos :4-1045.

Francioli P., Nahimana I., Lausanne, Widmen A., Bale,(1996).Infections du site chirurgical : revue-Swiss- : 3-15.

G

Gérard L., Isabelle V., Yves G., François V.(2015).Centre National de Référence des Staphylocoques, INSERM E0230, Faculté de Médecine Laennec, Lyon Service de Pédiatrie,Hôpital Edouard Herriot, Lyon. Disponible sur : <http://www.google.fr/search?hl=fr&DZ&gbv=1&oq=&aqs=&q=STAPHYLOCOCCUS>

Gorwitz, R.J., et al.(2008). Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. J Infect Dis. 197(9): p.1226-34.

Gillet Y., Issartel B., Vanhems P. et al.(2002). Association between *Staphylococcus aureus*

Références Bibliographiques

strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotizing pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet 359: 753-759.

H

Hougardy N., Louahabi A., Goffinet P.(2006).Détection directe et rapide du portage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline par extraction automatisée de l'acide nucléique et PCR en temps réel. PATBIO. Oct;54:477-481.

J

John J. Engemann et al. (2020). Adverse Clinical and Economic Outcomes Attributable to Methicillin Resistance among Patients with *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infection. Major article. 592 :07.

K

Kluytmans J., van Belkum A and H Verbrugh. (1997). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. Clin Microbiol Rev .10:505-520.

L

Lowy Fd.(2003). Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Invest. 111: 1265-1273.

Lowy Fd.(1998). *S. aureus* infections. N Engl J Med; 339 (8) : 520-532.

M

Madian M. et al.(2007).Brok :biologie des microorganismes 11 emeed, Pearson. Paris. Page :1047.

P

Pillou .(2013). document intitulé « Infection cutanée - Définition » issu de Journal des Femmes (sante-medecine.journaldesfemmes.fr).Disponible sur :

<http://www.google.fr/search?hl=frDZ&gbv=1&oq=&aqs=&q=Pillou+>

%282013%29.+document+intitul%C3%A9+%C2%AB+Infection+cutan%C3%A9e++D%C3

Références Bibliographiques

%A9finition+%C2%BB+issu+de+Journal+des+Femmes+%28santemedecine.journaldesfemmes.fr%29.Di sponible+sur+ Dernière mise à jour le 6 février 2013

PILLY.(2018).Infection cutanéomuqueuse et des phanères, bactériennes et mycosique, de l'adulte et l'enfant. Disponible sur :

<http://www.google.fr/search?hl=frDZ&gbv=1&oq=&aqs=&q=ecn+2018+infection+cuan%C3%A9o+mqueuse>.

R

Ross JI., Eady EA., Cove JH., Cunliffe WJ., Baumberg S., Wootton JC. (1990). Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport supergene family. *Mol Microbiol*,4(7) : 1207-1214.

ROGEAUX.(2020). Infectiologie CH métropole Savoie 23 janvier 2020 Grenoble Diplôme universitaire de thérapeutiques anti-infectieuses Grenoble. Disponible sur <http://www.google.fr/search?hl=fr>

S

Sabrina J M., Said A., Bjorn B., Namala M., Mabula K., Karim M., Eligius F., Lyamuya, Samuel Y., Maselle et Nina L.,(2014).High Nasal Carriage of Meticilline Resistant *Staphylococcus aureus* Among Healthy Tanzanian Under- 5 Children Microbial Drug Resistance, 20(1).

Schwarz S., Silley P., Simjee S., Woodford N., van Duijkeren E., Johnson AP and Gastra W .(2010). Editorial: Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *J Antimicrob. Chemother.* 65: 601–604.

Siegel J., Rhinehart E., Jackson M., Chiarello L.(2007). Management of multidrug resistant organisms in health care settings. *Am J Infect Control.*35:165-193.

Stephen H., Gillespie, Hawkey P,M.,(2006). principales and practice of clinical Bacteriology 2emeEdition.England: Wiley office.620p.ISBN:978-0-470-84976-7.

S. Cosgrove G. Sakoulas, E. Perencevich , M.J. Schwaber, A.W. Karchmer, Y. Carmeli. (2003).Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin susceptible *S. aureus* bacteremia : a meta-analysis. *Clin Infect Dis*; 36 : 539.

Références Bibliographiques

T

Tasseau F. et Baron D.,(1989). Infections nosocomiales. In : BRUKER G et FASSIN D, eds. Santé publique. Paris : Ellipses, 478-479.

Tortora J. et al. (2003). Introduction à la microbiologie, 2e,ERPI (Edition Du Renouveau Pédagogique INC). Canada. Page: 338-344.

V

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

Wertheim HF., Melles DC., Vos MC., Van Leeuwen W., Van Belkum A., Verbrugh HA., et al. (2005).The role of nasal carriage in *S. aureus* infections. Lancet Infect Dis,5(12):751-762.

Adresses électroniques

www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-hm/FT/2018/these239

<http://www.google.fr/search?hl=frDZ&gbv=1&oq=&aqs=&q=STAPHYLOCOCCUS>

https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www.bichatlarib.com/publications.documents/3489_100709-DAVIDO-THESE.pdf&ved=2ahUKEwjbpDp4O_pAhWCzIUKHTp-AIgQFjAAegQIARAB&usg=AOvVaw0DnXNReKZ7X3cWv_5N17T&cshid=1591534849519 (page consulté le 11/05/2020)

<http://www.google.fr/search?hl=frDZ&gbv=1&oq=&aqs=&q=Pr+agr.+MM.+BEKKAR+2020>.

<http://www.google.fr/search?hl=frDZ&gbv=1&oq=&aqs=&q=Pillou+.%282013%29.+document+intitul%C3%A9+%C2%AB+Infection+cutan%C3%A9e++D%C3%A9finition+%C2%BB+issu+de+Journal+des+Femmes+%28santemedecine.journaldesfemmes.fr%29.Disponible+sur+ Dernière mise à jour le 6 février 2013>.

Annexes



Annexes

Annexe 01

Compositions des milieux utilisés

1-Gélose nutritive (GN)

▪ Extrait de viande.....	1,0 g/l
▪ Extrait de levure	2,5 g /l
▪ Peptone	5,0 g /l
▪ Chlorure de sodium	5,0 g /l
▪ Agar.....	15,00g /l

Préparation

- Dissoudre 25 g de poudre de gélose nutritif dans un litre d'eau distillée
- Auto-claver a 121 C° pendant 15 minutes
- Repartir dans des tubes stériles
- PH final 7,4± 0,2

2-milieu Chapman

▪ Peptone.....	10,0g/l
▪ Extrait de viande bœuf.....	1,0g/l
▪ Chlorure de sodium.....	75,0g/l
▪ Mannitol.....	10,0g/l
▪ Rouge de phénol.....	0,025g/
▪ Agar.....	15,0g/l

Préparation

- Mettre en suspension 111,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir
durant le temps nécessaire à sa dissolution
- Repartir le milieu dans des flacons
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes

Annexes

3-Gélose au Sang

- Poly-peptone17,0g
- Peptone pancréatique de cœur3,0g
- Extrait auto-lytique de levure.....3,0g
- Amidon de maïs1,0g
- Chlorure de sodium.....5,0g
- Agar-agar bactériologique.....13,5g
- pH du milieu prêt-à- l'emploi à 25°C : 7,3± 0,2.

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.

4- Gélose Mueller- Hinton (MH)

- Infusion de viande de bœuf300 ml/l
- Peptone de caséine17,5g /l
- Amidon de maïs..... 1,5 g /l
- Agar17,0 g /l

Préparation

- Pour préparer ce milieu il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau
 - Faire une homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute
 - Ensuite on stérilisé la gélose a l'autoclave durant 15 minutes à 121,1°C
 - pH = 7,4

Annexes

Annexe 02

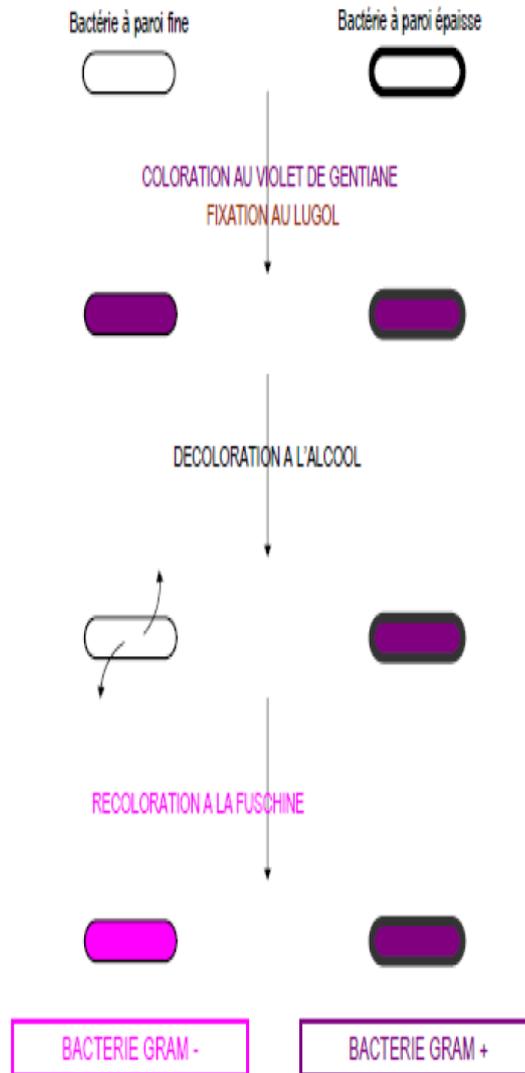
Les réactifs et les produits chimiques

•Réactifs et colorants	Compositions	• Compositions
Eau oxygénée (H₂O₂)		Solution de peroxyde d'hydrogène a 10 volumes, soit 0,95 mol.dm ³
Fuchsine		-Fuchsine basique.....10g -Phénol..... 50g -Ethanol a 0,95..... 100 cm ³ -Eau distillée..... 1dm ³
Lugol		-Iode..... 1 g -Iodure de potassium.....2g -Eau distillée qsp..... 1dm ³
Violet de gentiane		-phénol.....2.0g -violet de gentiane.....1.0g -éthanol à 90°10ml -eau distillée.....100ml

Annexes

Annexe 03

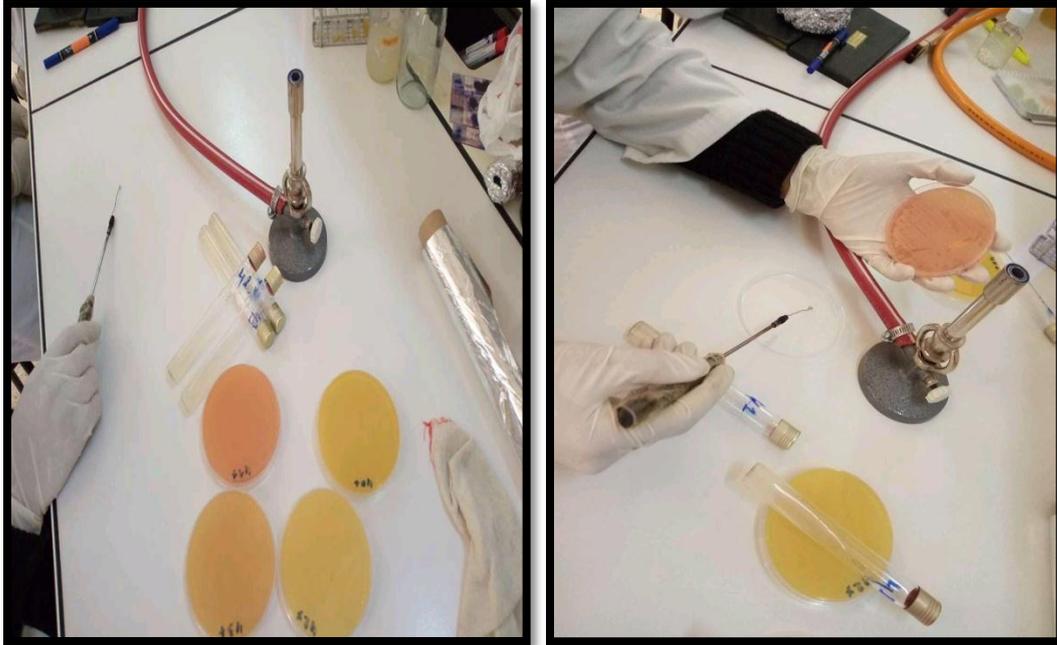
Coloration de Gram



Annexes

Annexe 04

Les étapes de conservation des souches .(photos personnel)

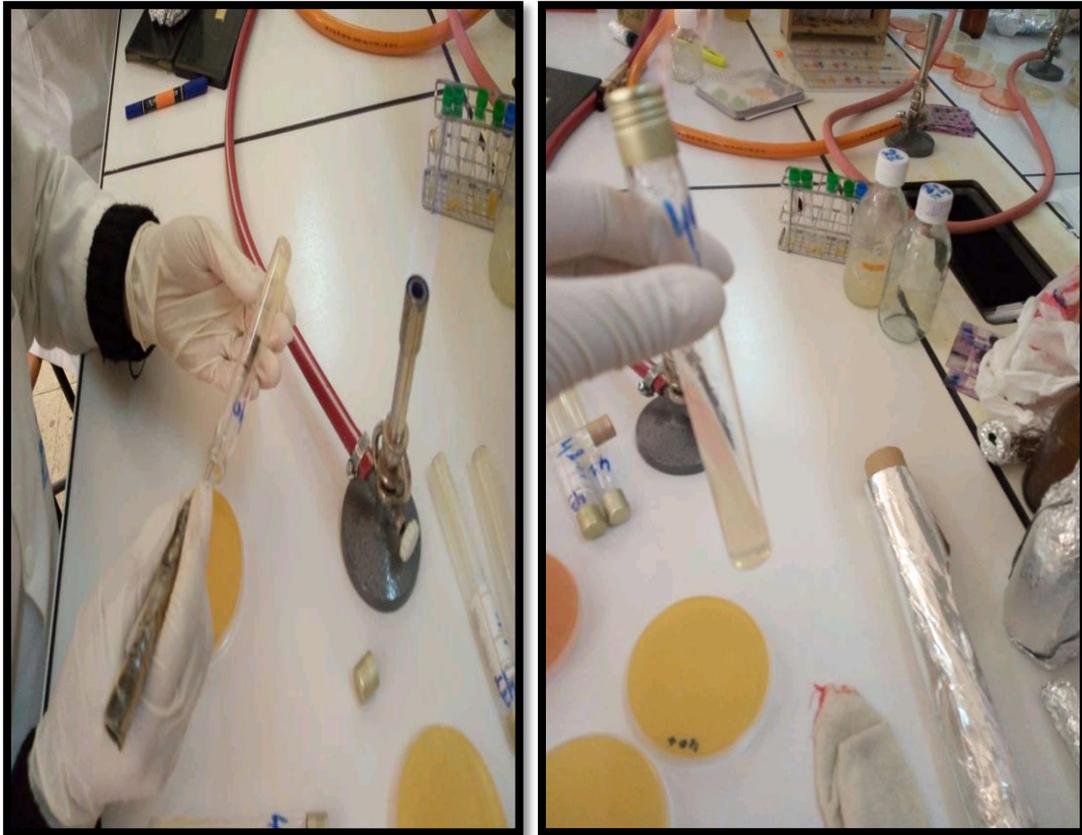


Des colonies du germe à étudié on été prélevé par une anse de platine



Une étape d'ensemencement par zigzag dans un tube à essai qui contient du gélose nutritive incliné

Annexes



Après l'ensemencement on ferme le tube ,et on fait l'incubation à 37°C pendant 24 h puis on conserve les souches à 04°C pour être utilisé dans le test d'antibiogramme

Annexes

Annexe 05

Les étapes de l'antibiogramme. (photos personnel)

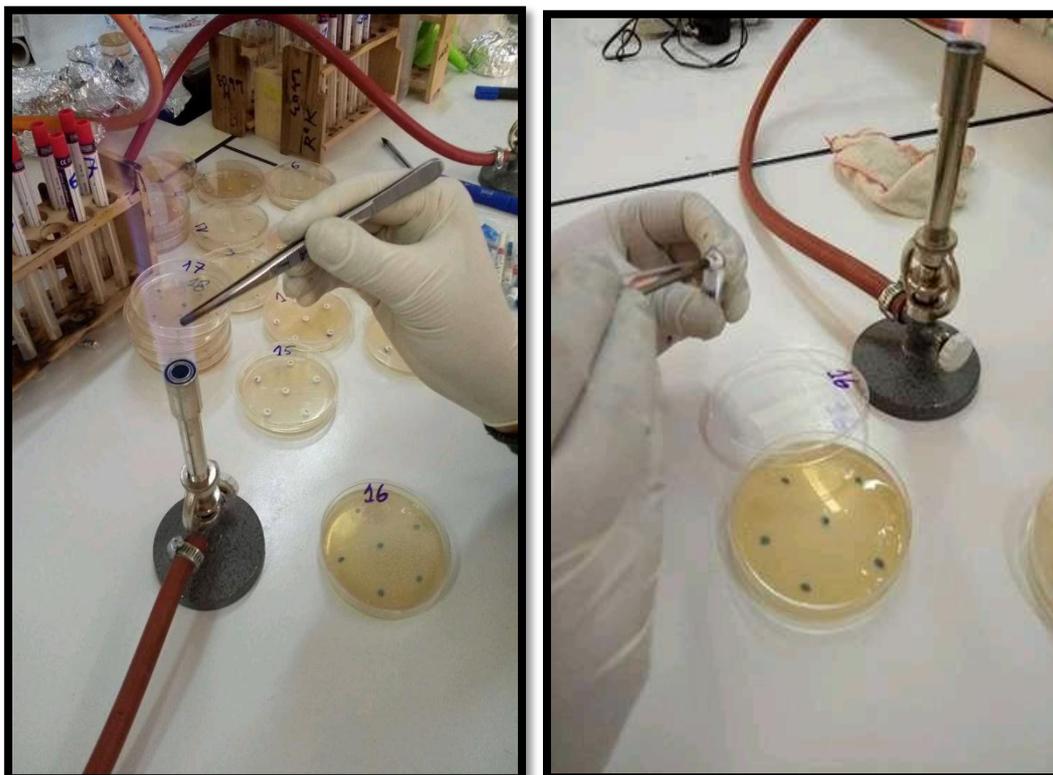


Des colonies du germe à étudié on été prélevé et dissocié dans 2 ml d'eau distillée

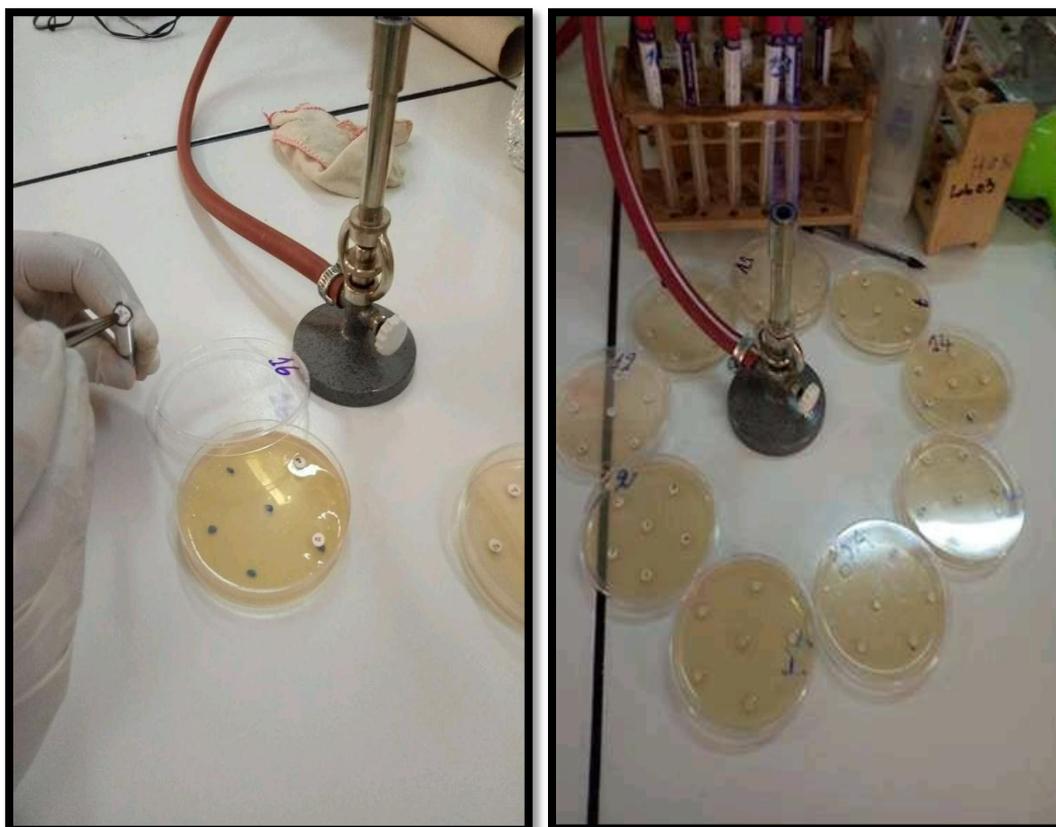


Après agitation les boîtes de gélose MH ont été étalées par écouvillonnage

Annexes



On prélève le disque d'antibiotique à l'aide du pince après son stérilisation



Les disques d'ATB à tester ont été déposés et incubés à 37°C pendant 24heurs

Annexes

Annexe 06

Tableau des valeurs critiques, diamètres et zones d'inhibition des *Staphylococcus aureus*.
(Communiqué du CFA-SFM, Avril 2020)

Famille	Antibiotique	Charge de disque	Sigle	Concentrations critiques (mg/l)		Diamètres Critiques (mm)	
				S	R	S	R
Fluoroquinolones	Ofloxacine	5 µg	Ofx	≤0.5	>1	≥50	<20
Beta lactamine	Pipéracilline	75 µg	PRL	≤8	>16	≥26	<26
	Oxaciline	30	OX	2	2	≥26	<26
Tétracycline	Tétracycline	30µg	TTC	≤4	>8	≥22	<19
Aminoside	Kanamycine	30µg	K	≤8	>8	≥18	<18
Glycopeptides	Vancomycine	30 µg	VA	≤4	>8	≥17	-