



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 :

**Etude de la différence de l'antibiorésistance entre
SARM nosocomial et SARM acquis en
communauté (SARM –Ac)**

Présenté par :

Abaidia Naziha

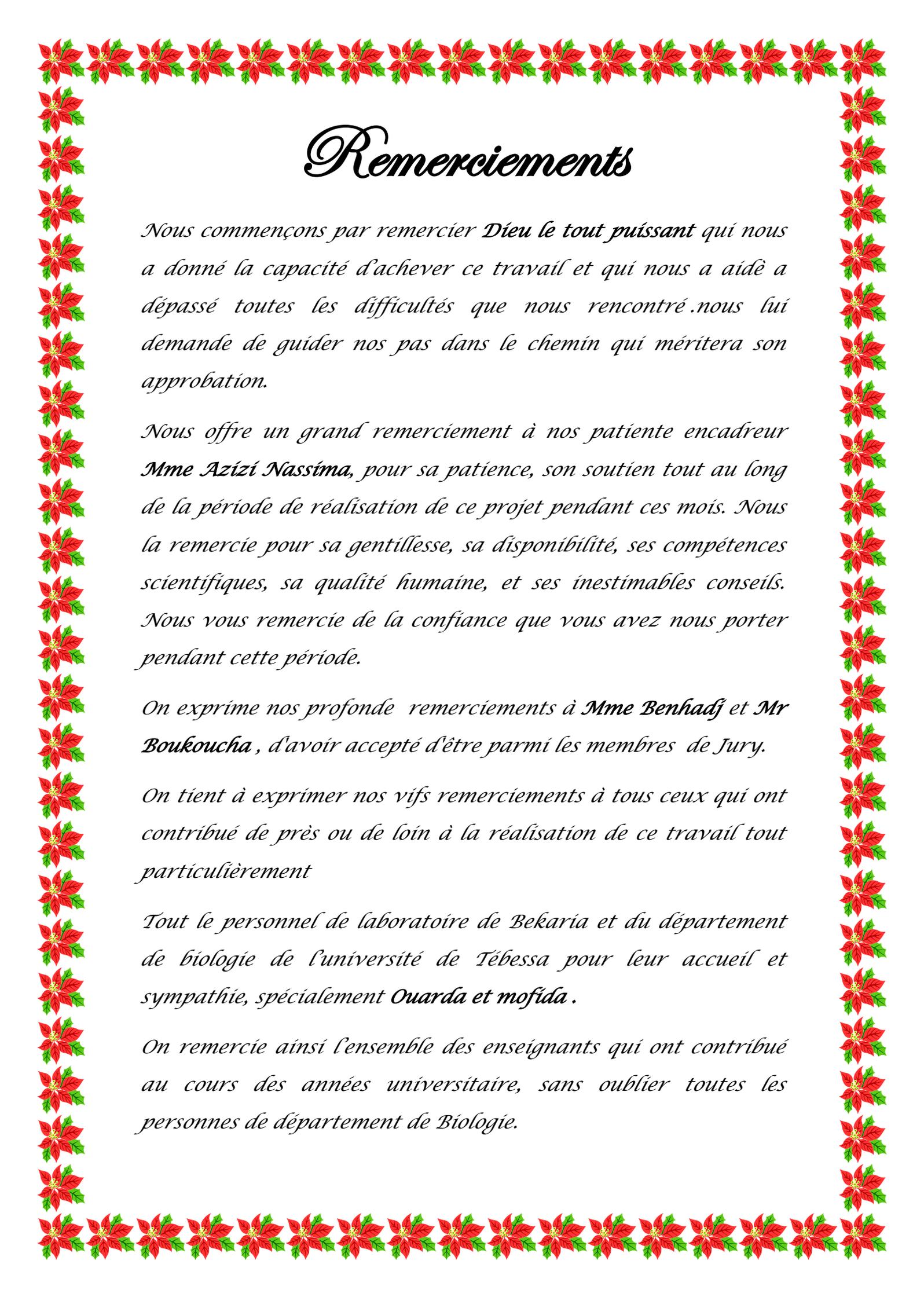
Madhbouh Chaima

Menaceur Asma

Membres de Jury :

Boukoucha M .	(MCB)	Université de Tébessa	Président
Azizi N .	(MAA)	Université de Tébessa	promotrice
Benhadj M .	(MCB)	Université de Tébessa	Examinatrice

Année universitaire : 2018-2019



Remerciements

Nous commençons par remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la capacité d'achever ce travail et qui nous a aidé à dépassé toutes les difficultés que nous rencontrés. nous lui demande de guider nos pas dans le chemin qui méritera son approbation.

Nous offre un grand remerciement à nos patiente encadreur Mme Azizi Nassima, pour sa patience, son soutien tout au long de la période de réalisation de ce projet pendant ces mois. Nous la remercies pour sa gentillesse, sa disponibilité, ses compétences scientifiques, sa qualité humaine, et ses inestimables conseils. Nous vous remercies de la confiance que vous avez nous porter pendant cette période.

On exprime nos profonde remerciements à Mme Benhadj et Mr Boukoucha, 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 de Bekaria et du département de biologie de l'université de Tébessa pour leur accueil et sympathie, spécialement Ouarda et mofida.

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





Dédicace

Au nom de Dieu le Tout-Puissant

Je dédie ce modeste travail à :

A La personne la plus chère à mon cœur :

Maman, qui est le symbole de courage et de patience, depuis mon enfance, qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de ma vie ...,les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale.

Tu es la seule qui comprend ma vie : Je te demande pardon et encore une fois Merci.

A mon cher papa, qui offre sa vie à moi et à mes frères. Je n'ai pas assez des mots pour t'exprimer toute la gratitude que j'ai pour ta personne. Merci papa d'avoir toujours cru en moi.

A mes chères sœurs : Abla, Sonia, Bouthaina et mes chers frères :Hassen, Walid, Saddam.

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.

Et enfin à toute ceux qui sont chers à mon cœur.

Naziha

Nazíha



Dédicace

Merci à DIEU le Tout Puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail.

A mon père Bachir : grâce à vous, j'apprends le sens de la dignité et le respect du soi, vraiment, vous êtes mon honneur.

Votre affection, votre soutien moral et matériel ne m'ont jamais fait défaut.

et je souhaite que j'ai réussi à atteindre même une partie de vos objectifs. Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à cet instant. Qu'Allah puisse vous accorder encore santé, bonheur, et longévité.

A ma mère Saïda: Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi :tu es la première responsable de ma réussite, tu es ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale.

A ma grande mère ZAARA : Merci pour tous tes efforts, et pour tes conseils.

A mes sœurs DOUA et ALLA et ma frère DJALLEL: Merci pour tes conseils et tes encouragements.

et tous mes amies sans exception, Et a tous ceux qui sont chers à mon cœur spécialement mon enseignante de coron FADILA .

A toute mes amies Sans exception, qui m'ont aidé pour réaliser ce travaille KHEMISSA, CHAÏMA, AMIRA, AFEFE, AMEL, NADIA, NAZIHA, ASMA

A toute mes collègue, les enseignante et l'équipes pédagogiques de CEM de TALBI abde louahed - Tébessa.

et toute la promotion de microbiologie 2018 /2019

Chaïma

C

Cháima



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*À celui qui n'a pas cessé de me procurer son aide au long de mon parcours d'étude ; à toi **papa**, et à celle qui m'a accordé toute sa patience, sa générosité et son amour ; **maman**.*

À mes chères sœurs : Merci pour vos encouragements et vos conseils.

À ma chère copine : Souhaïla. Pour l'amitié qui est la nôtre et pour tout l'amour que j'ai pour toi. Tu es restée dans mon cœur.

À tout la promotion de la microbiologie.

Asma

Tables des matières

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

ملخص

Résumé

Abstract

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I: Généralité sur *S.aureus*

Introduction	1
1.Historique.....	2
2.Définition.....	2
3.Taxonomie	3
4.Caractères d'identifications.....	3
4.1.Caractères bactériologiques.....	3
4.2.Caractères cultureux.....	4
4.3.Caractères biochimiques.....	4
4.4.Caractères physiologiques.....	5
5.Épidémiologie des infections à <i>S.aureus</i>	6
5.1.Colonisation.....	6

Tables des matières

5.2.Transmission.....	6
6.Physiopathologie des infections à <i>S.aureus</i>	6
6.1.Les facteurs de virulences du <i>S. aureus</i>	6
6.1.1.Protéine de surface.....	7
6.1.2.Facteurs protégeant la bactérie de la phagocytose.....	8
6.1.3.Les facteurs de virulence solubles.....	8
1.3.1.Les toxines.....	9
1.3.2. Les enzymes.....	9
 Chapitre II : les infections nosocomiales et communautaires	
1.Généralité sur les SARM.....	11
2.Les infections nosocomiales.....	11
2.1.Définition.....	11
2.2.Sites infectieux.....	12
2.3.Mode de contamination.....	13
2.4. Les services à risque.....	14
2.5. Les risque de contamination	14
3.Les infections communautaires.....	15
3.1.Définition.....	15
3.2. Sites infectieux.....	15
3.3. Mode de contamination.....	15
4. La différence entre SARM nosocomiale et SARM acquise.....	16

Tables des matières

Chapitre III : Résistance de *S.aureus* aux antibiotiques

1. Généralité sur l'antibiorésistance.....	19
2. Résistance de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	20
2.1.1. Résistance aux β -lactamines.....	20
2.1.2. Résistance par production de bêta-lactamases.....	21
2.1.3. Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle: la PLP2a.....	21
2.2. Résistance de <i>S.aureus</i> aux glycopeptides	22
2.3 Mécanisme d'action des macrolides, lincosamides et synergystines.....	23
2.4. Mécanisme de résistance des aminoside.....	24
2.5. Résistance de <i>S.aureus</i> aux cyclines.....	24
2.6. Résistance à la méthicilline	25
3. Épidémiologie des SARM.....	26

PARTIE EXPERIMENTALE :

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

1. Objectif d'étude.....	27
2. Cadre de l'étude.....	27
3. Prélèvement.....	28
3.1. Prélèvement de Pus.....	29
4. Conditions de prélèvement.....	29
5. Isolement.....	29
6. Purification et conservation.....	30

Tables des matières

7. Identification.....	30
7.1. Examens macroscopiques.....	30
7.2. Examens microscopiques.....	30
7.2.1. Coloration de Gram.....	30
7.3. Identification biochimique.....	32
7.3.1. Test de Catalase.....	32
7.3.2. Test de coagulase.....	33
7.3.3. La fermentation du mannitol.....	35
8. Test de screening à l'oxacilline pour <i>S. aureus</i> : Recherche de la résistance de <i>S. aureus</i> à la méticilline (ou Oxacilline).....	35
9. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme ».....	36
9.1. Technique.....	36
9.2. Les antibiotiques testés.....	37
9.3. Application des disques d'antibiotiques.....	39
9.4. Lecture et interprétation.....	39
Chapitre 2 : Résultat et discussion	
1. Les isolats bactériens.....	40
2. Répartition des SARM selon la nature de prélèvement.....	40
3. Identification bactérienne.....	40
3.1. Aspect macroscopique.....	40
3.2. Aspect microscopique.....	41
3.3. Identification biochimique des souches.....	43
4. Détection de la méthicillino-résistance.....	44
5. Résultat de l'antibiogramme.....	45
5.1. Sensibilité des souches de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	45
5.1. Les SARM nosocomiales.....	46
5.1.2. Les SARM communautaires.....	49
5.2. Comparaison de l'antibiorésistance entre SARM nosocomiale et SARM communautaire.....	52
Discussion générale.....	55

Tables des matières

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Taux d'infection dans les services hospitaliers	14
02	Caractéristiques du SARM-C et du SARM-N	18
03	les prélèvements nosocomiales	27
04	les prélèvements communautaires	28
05	Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés	37
06	les pourcentages de différent prélèvement	40
07	Profils de résistance et sensibilité aux antibiotiques des SARM N	46
8	Antibiogramme des isolats de SARM nosocomiales.	47
9	Profils de résistance et sensibilité aux antibiotiques des SARM C .	49
10	Antibiogramme des isolats de SARM communautaires.	50
11	Comparaison de l'antibiorésistance entre SARM N et SARM C	52

Liste des figures

N°	Titre	<i>page</i>
01	Staphylocoques en amas après coloration de Gram	04
02	Expression des facteurs de virulence du <i>S.aureus</i>	07
03	Répartition des infections nosocomiales en fonction du site	12
04	Transmission de l'infection hospitalière	13
05	Comparaison de la cassette de résistance du SARM-N et SARM-AC	17
06	Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique	19
07	Structure du noyau bêta-Lactame	21
08	Mécanisme de résistance de staphylocoque aux bêta-lactamines	22
09	Mécanisme de résistance aux glycopeptides	23
10	Mécanisme de résistance de SARM par PLP2	25
11	Prélèvement de pus	29
12	Recherche de catalase	32
13	Recherche de coagulase	33
14	Organigramme de l'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
15	Fermentation du mannitol par des souches de <i>S.aureus</i>	35
16	Les étapes de l'antibiogramme	37
17	Répartition des SARM selon l'origine de prélèvement	40
18	aspect de <i>S.aureus</i> sur milieu Chapman	41
19	aspect de <i>S.aureus</i> sur gélose nutritif	42
20	Coloration de Gram	42
21	Test de catalase	43
22	Test de coagulase	43
23	fermentation de manitol	44
24	répartition des <i>S.aureus</i> selon la résistance à la méthicilline	45
25	Taux de résistance et de sensibilité des souches SARM nosocomiales aux antibiotiques	48
26	Taux de résistance et de sensibilité des souches SARM communautaires aux antibiotiques	51
27	Taux de résistance et de sensibilité des souches SARM communautaires aux antibiotiques	53

Liste des figures

28	SARM nosocomiales	54
29	SARM communautaires	54

Listes des abréviations

SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méticilline
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline
SARM-H	SARM hospitalier
SARM-AC	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méticilline Hospitalier aquire
MSCRAMM	Microbial Surface components Recognizing Adhesive Matrix Molecule
TSST-1	Toxic Shock Syndrome Toxin-1
ADN	acide désoxyribonucléique.
ARN	Acide Ribo Nucléique
IgG	Immunoglobuline G
NaCl	Chlorure de sodium
IN	Infection Nosocomiale
ERV	<i>entérocoques</i> résistante à la vancomycine
ISO	Infection de Site Opératoire
IU	infections urinaires
bla Z.	gène de résistance aux β -lactamines
Van	gène de résistance à la vancomycine.
Mec A.	gène de résistance à la méticilline
SCCmec	Staphylococcal Chromosomal Cassette.
PLV	Panton Valentine Leucocytine
PLP	protéines de liaison à la pénicilline
GISA	glycopeptide-intermediate <i>S. aureus</i>
VISA	vancomycine-intermediate <i>S. aureus</i>
Spa	<i>Staphylococcus aureus</i> protein A gene
CMI	Concentration minimale inhibitrice.
CifB	Clumping factor B
MLS	Macrolides, Lincosamides et Streptogramines
erm	Erythromycin resistance methylase
GN	Gélose nutritive
MH	Miller Hinton
BHIB	bouillon coeur-cerveille (BrainHeart Infusion Broth)
CASFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute.
R	Résistant
S	Sensible
AM	Ampicilline

Listes des abréviations

TIC	Ticarciline
GN	Gentamicine
AN	Amikacine
PT ; PM	Pristinamycine
VA	Vancomycine
TE	Tétracyclines
AMX	Amoxicilline
PI	Piperacilline
CS	Colistin sulfate
OFX	Ofloxacin
C	Chloramphenicole

الملخص:

الهدف من تحليل 33 عينة من العدوى المكتسبة من الامراض المستمدة من المجتمع هو عزل MRSA وتحديد مقاومتها للمضادات الميكروبات وكشف عن وجود 15 MRSA مع 68, 18 % منها (8 هي امراض العدوى الاستشفائية 7 من المجتمع).

توضح مقارنة المقاومة المضادة للميكروبات بين SARMC و SARMN أنه لا يوجد فرق فيما يتعلق بالمضادات الحيوية التالية (تيكارسيلين , اكاميسين, كلوروفينيكول ,كوليستين,سيلفات, امبيسيلين) . ومع ذلك هناك فرق كبير في المضادات التالية (الفونكوميسين , البيبراسيلين , جنتاميسين , بريستيناميسين , أفلوكسيسين) لأن معدل مقاومة SARMH أعلى من SARMC .

حساسية السلالات ضد فانكوميسين او فلوكسيسين وجنتاميسين تضع هذه المضادات الحيوية الأختيار الأمثل لمعالجة SARMN تعدد مقاومة البيكتيريا او السلالات المعزولة تجعل إختيار علاجها صعب ومن هنا تأتي تدابير النظافة و الاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية :

-العدوى الاستشفائية - المجتمع - مقاومة المضادات الحيوية - SARM

Résumé

Résumé :

L'analyse de 33 prélèvements issus des infections nosocomiales et communautaires dont l'objectif est d'isoler et d'identifier les SARM, et comparer leur antibiorésistance, a révélé la présence de 15 SARM avec un pourcentage de 68,18% dont 8 sont nosocomiales et 7 communautaires.

La comparaison de l'antibiorésistance entre SARM_N et SARM_C montre qu'il n'y a pas une différence vis-à-vis les ATB suivants (AM, CS, TC, AK, C). Cependant, on note une différence importante sur le profil des ATB (V, PR, HLG, OFX, PIP) ; car le taux de résistance de SARM-H est plus élevé que les SARM-C.

La sensibilité de nos souches contre la vancomycine, l'ofloxacine et la gentamycine, les rendent les ATB de choix thérapeutique des SARM_H.

La multirésistance de nos souches, rend le choix de l'antibiorésistance approprié pour le traitement des infections hospitalières. D'où l'importance des mesures d'hygiène ainsi que l'utilisation rationnelle des antibiotiques.

Mot clés : SARM, nosocomiale, communautaire, antibiorésistance

Abstract:

The analysis of 33 samples from nosocomial and community-acquired infections aimed at isolating and identifying MRSA, and comparing their antimicrobial resistance, revealed the presence of 15 MRSA with a percentage of 68.18% of which 8 are nosocomial and 7 community.

The comparison of antimicrobial resistance between SARMN and SARMC shows that there is no difference with respect to the following ATBs (AM, CS, TC, AK, C) .However, there is a significant difference in the profile ATBs (V, PR, HLG, OFX, PIP); because the resistance rate of MRSA-H is higher than the MRSA-C.

The sensitivity of our strain against vancomycin, ofloxacin and gentamycin, makes them the ATBs of therapeutic choice of the SARMH.

The multidrug resistance of our strains makes the choice of antibiotic therapy more important for the treatment of hospital infections. Hence the importance of hygiene measures and the rational use of antibiotics.

Key words: MRSA, nosocomial, community, antimicrobial resistance

Introduction

Introduction

Depuis leur découverte et leur utilisation lors de la seconde guerre mondiale, les antibiotiques ont permis de faire considérablement reculer la mortalité des maladies infectieuses au cours du XXe siècle (InVS et ANSM, 2014). Malheureusement, la résistance bactérienne aux antibiotiques a rapidement constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale.

Dès 1942, des souches de staphylocoques résistantes à la pénicilline sont apparues par production d'une enzyme : la pénicillinase ou bêta-lactamase, rendant nécessaire la recherche de nouveaux antibiotiques (Lucet et al., 2003). La méticilline, une bêta-lactamine résistante aux pénicillinase a été utilisée à partir de 1960. Comme pour la pénicilline, *S. aureus* a développé rapidement dès 1961 des résistances vis-à-vis cet antibiotique (Lucet et al., 2003) d'où le terme de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM).

Les SARM sont responsables d'infections nosocomiales et communautaires graves chez l'homme. Cette résistance est due à un gène *mecA* (Berthelot et al., 2001), codant pour une protéine de liaison aux pénicillines modifiées : la PLP2a, qui constitue sans doute l'un des indices majeurs de l'histoire de l'évolution de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries infectant les animaux et l'homme (Berger ; 1999).

De surcroît, les SARM sont très souvent résistants à de nombreuses autres familles d'antibiotiques que celle des bêta-lactamines, ce qui rend plus complexe le choix de meilleure option thérapeutique (Ito et al., 2004).

De cette situation d'antibiorésistance important l'objectif de notre travail est :

- l'isolement et l'identification des SARM à partir des divers prélèvements hospitaliers et communautaires.

- étudier leurs résistances vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques.

- faire la comparaison entre SARM nosocomiales et communautaire.

Le travail est divisé en 02 grands volets dont : La première partie est la bibliographie, qui présente des généralités sur les SARM, les infections nosocomiales et communautaire, et la résistance de *S. aureus* aux antibiotiques.

la seconde partie est la partie pratique basé sur le matériel et méthodes utilisés, et la Présentation des résultats expérimentaux obtenus et enfin une discussion et conclusion.



*Synthèse
bibliographique*

Chapitre I: Généralité sur *S .aureus*

1. Historique :

Avant l'arrivée des antibiotiques, les infections causées par le *S.aureus* étaient une cause fréquente de morbidité et de mortalité. Au début des années 1960 en Europe, le staphylocoque est devenu résistant aux pénicillines semi-synthétiques (la méthicilline, l'oxacilline et la nafcilline). Une résistance fréquente à plusieurs antibiotiques (multi-résistance) comme l'érythromycine, la tétracycline et la clindomycine a été observée (S.Cosgrove *et al.*, 2003).

L'abréviation SARM est utilisée pour faire référence aux souches de *S.aureus* qui possèdent une résistance aux antibiotiques énumérés précédemment, dont la méthicilline depuis son apparition au Canada en 1987, le SARM a été reconnu comme un pathogène nosocomial d'envergure en raison de son importante propagation dans les centres hospitaliers (SARM-H).

Bien que le SARM soit considéré d'abord et avant tout comme une infection nosocomiale, la littérature à la fin des années 1990 apporte des infections à SARM acquises dans la communauté chez des patients qui n'ont aucun lien avec les milieux de soins, d'où l'expression SARM communautaire ou SARM acquise en communauté (SARM-AC) (S.Cosgrove *et al.*, 2003).

2. Définition :

Le *Staphylococcus aureus* (aussi appelé staphylocoque doré ou staphylocoque à coagulase positive) est un Cocci Gram positif appartenant à la famille de *Micrococcaceae*, immobiles, non sporulés, réunis en amas (Buyser, 1996).

Le *S.aureus* est un agent pathogène fréquemment retrouvé dans de multiples infections nosocomiales et communautaires. Il est l'un des principaux agents étiologiques des infections cutanées, ostéo-articulaires, des pneumonies bactériennes et des bactériémies.

3. Taxonomie :

Selon la 9^{ème} édition du Bergey's Manual of systematic Bactériologie, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif pauvres en GC%, dans le phylum des *firmicutes* ;

Classe : *Bacilli*

Ordre : *Bacillales*

Famille : *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Espèce : *Staphylococcus aureus* (Prescott et al., 2010).

4. Caractères d'identifications

4.1. Morphologie:

S.aureus sont des Cocci à Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques, en courtes chainettes ou en amas, ayant la forme de grappe de raisin, immobiles, non sporulés mais parfois encapsulés. Ils mesurent 0,8 à 1 µm de diamètre (Couture, 1990; Fauchere et Avril, 2002).

le mode de regroupement dit en grappe de raisin ou en amas est plus caractéristique après culture sur un milieu gélosé. La disposition en amas s'explique par la division cellulaire des staphylocoques en trois plans successifs et perpendiculaires les uns aux autres et par le fait que les cellules filles ne se séparent pas complètement de la cellule mère dont elles sont issues.

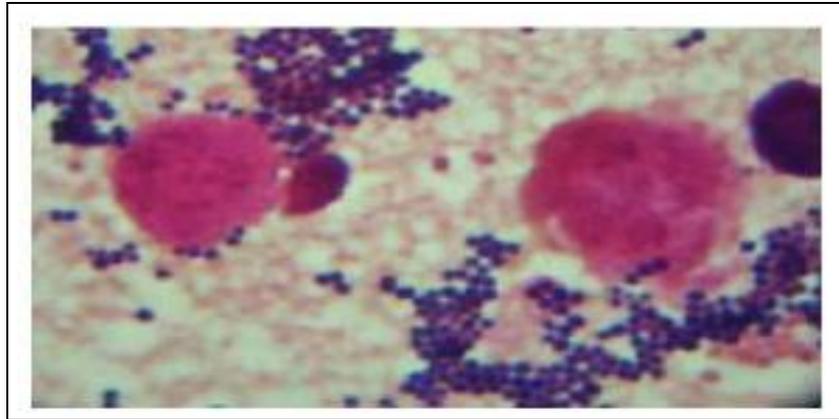


Figure01:Staphylocoques en amas après coloration de Gram(**Fasquelle,1974**).

4.2.Caractères cultureux:

S.aureus sont cultivable sur milieux ordinaires en aérobiose comme en anaérobiose en formant, sur milieux solides, des colonies lisses, luisantes, bombées, plus ou moins pigmentées en jaune d'or, d'où l'appellation *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque "doré". En milieu liquide, il produit, dans le bouillon, un trouble homogène (**Kloos et Shleifer, 1975**).

Elle n'a pas d'exigences particulières. Si les conditions idéales de croissance sont: une température de 37°C et un PH de 7,5, de grandes variations sont tolérées. Comme tous les *Micrococacceae*, il se multiplie dans des milieux contenant une forte concentration de NaCl. Elle est capable de transformer de nombreux substrats, notamment les sucres, ce qui peu d'intérêt pratique sauf en ce qui concerne le mannitol (un polyalcool), que *S.aureus* peut fermenter, contrairement à la plupart des *Staphylococcus* (**Couture, 1990**).

4.3.Caractères biochimiques

La recherche des activités biochimiques des Staphylocoques est précieuse :

- pour identifier le genre *Staphylococcus* ;
- pour distinguer un Staphylocoque pathogène d'un non pathogène ;
- pour préciser l'origine humaine ou animale d'un Staphylocoque.

- Toutes les souches du genre *Staphylococcus* produisent une catalase, permettant ainsi de les distinguer des souches du genre *Streptococcus* qui n'en produisent pas (**Le Minor et Veron, 1990**).

S. aureus possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (**Ferron, 1984**).

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés; (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol), le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol. L'utilisation du mannitol est une indication importante parce que ce polyalcool est fermenté par *S. aureus* et *S. epidermidis* (**Couture, 1990**).

Ce qui caractérise mieux l'espèce *S. aureus*, c'est la production d'une staphylocoagulase (**Fauchere et Avril, 2002**). Cependant, certaines souches de *S. aureus* peuvent ne pas produire de coagulase libre en raison d'une mutation. Ainsi, une DNase thermostable permet de déterminer si le germe isolé est un *S. aureus* (**Couture, 1990**).

Les *staphylococcus aureus* d'origine humaine possèdent une hémolysine "alpha" que l'on peut mettre en évidence sur gélose au sang de lapin ou au sang de mouton. Tandis que les *staphylococcus aureus* pathogènes d'origine animale possèdent une hémolysine "bêta" active uniquement sur les globules rouges de mouton (**EL Kouri et al., 1998 ; Avril et al., 2003**).

4.4. Caractères physiologiques: Le *S. aureus* est une bactérie aéro-anaérobie facultative, et se cultive bien sur les milieux ordinaires (Gélose nutritive, bouillon nutritif....), et également sur gélose au sang et le milieu sélectif Chapman. C'est une bactérie mésophile (37°C de croissance optimale), neutrophile (pH 7 optimale) et halophile (se développe à de fortes concentrations de NaCl). Elle est aussi relativement résistante aux inhibiteurs bactériens comme le cristal violet et le tellurite de potassium (**Trouillet, 2011**).

5.Épidémiologie de *S.aureus* :

5.1. Colonisation :*Staphylococcus aureus* est une bactérie ubiquitaire dont le réservoir est principalement l'homme. Cette bactérie colonise facilement l'homme, au niveau de la muqueuse des fosses nasales antérieures (environ un tiers des sujets sont porteurs asymptomatiques), mais aussi fréquemment au niveau de la région auxiliaire, de la gorge, du périnée, du vagin, du rectum ou des lésions cutanées chroniques. Elle se trouve aussi dans l'environnement (eau, air, surfaces, aliments) et chez l'animal notamment d'élevage.

5.2. 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, vêtement, literie, etc.) et elle est exceptionnellement aéroportée.

Les toxi-infections alimentaires collectives sont des épidémies concernant des sujets ont consommé le même repas (restaurant, cantine), contenant des aliments souillés par du personnel porteur de Staphylocoques et dont les conditions de conservation ont permis la multiplication (Wolff.M, 2002).

6. Physiopathologie des infections à *S.aureus* :

6.1. Les facteurs de virulence de *S.aureus* : Plusieurs facteurs expliquent la fréquence et la gravité des infections à *S.aureus*, le caractère ubiquitaire de la bactérie et la multi-résistance de certaines souches aux antibiotiques. Le Staphylocoque a en effet des capacités de sécrétion des facteurs d'adhésion, d'enzymes de résistance ou encore de toxines (Buckingham SC et al., 2004).

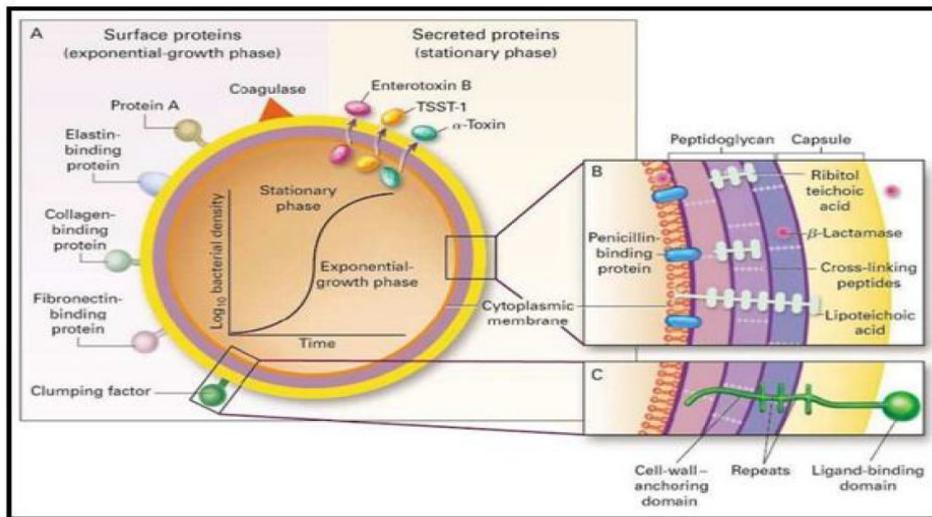


Figure02 :Expression des facteurs de virulence du *S.aureus*(LOWY,FD,1998).

6.1.1. Protéine de surface(colonisation): pour qu'une bactérie colonise un tissu,il faut au préalable qu'elle adhère.Cette étape est déterminante dans le développement ultérieur de l'infection..*S.aureus* colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire grâce à des protéines de surfaces appelés **adhésines**.La grande majorité de ces adhésines appartiennent à la famille des **MSCRAMM** (Microbial Surface components RecognizingAdhesive MatrixMolecule).Parmi les mieux caractérisées on peut citer notamment:

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

b.Les protéines de liaison au fibrinogène :elle est appelée clumpingfactor,diffusible dans le milieu après autolyse,et réagit avec le fibrinogène ou des monomères solubles de fibrine.Cette adhésine joue un rôle dans les infections sur corps étranger.Il semble que le CIFB soit fortement impliqué dans la colonisation nasale(**Bronner et al.,2004**).

c. La protéine de liaison à la fibronectine : Cette protéine 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. La protéine de liaison au collagène : L'attachement au collagène est nécessaire et suffisant pour l'adhésion de *S.aureus* au cartilage in vitro. Ce récepteur du collagène pourrait constituer un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires (Buckingham et al., 2004).

e. Les sidérophores : Le fer est indispensable à la croissance des Staphylocoques et l'une des méthodes de défense de l'hôte et la diminution de la fraction disponible du fer (fixation à la lactoferrine et à la transferrine). Le *S.aureus* s'adapte en sécrétant des sidérophores capables de capter et de transporter le fer dans la bactérie. La quantité produite dépend de l'origine pathologique des souches (Cox RA et al., 1995).

6.1.2. Facteurs protégeant la bactérie de la phagocytose :

a. La capsule : la capsule permet une meilleure résistance des souches à l'opsonisation et à la phagocytose. Certaines souches produisent un exo-polysaccharide (glycocalyx) qui entraîne la formation d'un biofilm, engluant les bactéries et constituants ainsi une forme de résistance au site de colonisation (Baggett et al., 2004).

b. La paroi : Elle est formée du peptidoglycane, des acides téchoïques et lipotéichoïques. Ces composants possèdent des effets biologiques démontrés in vitro, notamment une activité endotoxin-like stimulant la sécrétion de cytokines par les cellules lymphomonocytaires, l'activation du complément et l'agrégation plaquettaire (Baggett et al., 2004).

6.1.3. Les facteurs de virulence solubles : Le pouvoir pathogène de *S.aureus* tient également à la production d'un grand nombre de substances diffusibles.

a. Les toxines: Les principales toxines sont les hémolysines, la leucocidine, exfoliatines, et la toxine de choc toxique TSST-1.

-Hémolysines: L'hémolysine alpha ou staphylolysine alpha est cytotoxique et cytolytique. Elle a un effet nécrotique sur la peau liée à son effet vasoconstricteur. C'est une hémolysine active surtout sur les hématies de lapin. Il existe d'autres hémolysines, bêta, gamma et delta dont le pouvoir toxique est incertain. (EL Kouri et al., 1998 ; Avril et al., 2003).

-Leucocidine: Cette toxine sur les granulocytes, les macrophages, et les basophiles et provoque leur immobilisation puis leur dégranulation et leur lyse (Avril et al., 2003).

-Entérotoxines: Certaines souches de *S.aureus* élaborent des toxines protéiques responsables de toxi-infection alimentaires: les entérotoxines staphylococciques, au nombre de cinq A, B, C, D, E. C'est leur activité super antigène qui explique les effets toxiques (Le Minor et Veron, 1990 ; Avril et al., 2003).

d-La toxine du syndrome de choc toxique: Certaines souches de *S.aureus* élaborent une toxine pyrogène et létale: la toxine du syndrome de choc toxique ou TSST (toxic-shock-syndrom toxin) (Avril et al., 2003).

-Exfoliatines ou épidermolysines: Certaines souches de *S.aureus* élaborent des toxines protéiques A ou B. Elles sont responsables de staphylococcies cutanées bulleuses dues à des lésions histologiques caractérisées par un décollement intra-épidermique donnant lieu au syndrome de la peau ébouillantée ou syndrome de Ritter (Avril et al., 2003).

b. Les enzymes: Diverses enzymes peuvent être mise en évidence chez *S.aureus*, catalase qui existe chez tous les *Micrococacceae*, désoxyribonucléase, phosphatase, hyaluronidase, fibrinolysine, lipase et protéolysines, qui caractérisent *S.aureus*. La présence d'une coagulase identifie, en pratique courante, l'espèce *aureus*. Il existe une coagulase libre et une coagulase liée:

-Coagulase libre : *S.aureus* fabrique une enzyme capable de coaguler en quelques heures le plasma humain (ou du lapin) citraté ou hépariné. La coagulase est une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte et forme un complexe appelé staphylothrombine qui transforme le fibrinogène en fibrine (Avril et al., 2003).

-Coagulase liée ou clumping factor :À côté de cette coagulase libre, il existe aussi une autre substance insoluble qui paraît être fixée au corps bactérien appelée coagulase liée ou -clumping factor- qui peut être rencontrée chez certaines espèces de Staphylocoque coagulase négative. C'est une protéine constituant la paroi, elle fixe le fibrinogène et entraîne l'agglutination des Staphylocoques (Avril et al., 2003).

-Catalase :Elle inhibe la bactéricidie intra leucocytaire en empêchant la formation, par les globules blancs, de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie (EL Kouri et al., 1998).

- β -lactamases :Elles inactivent les bêta-lactamines et jouent un rôle important dans la résistance des souches de Staphylocoques à ces antibiotiques (EL Kouri et al., 1998).

-Hyaluronidase:C'est une enzyme thermostable qui hydrolyse l'acide hyaluronique. Elle fluidifie la substance fondamentale du tissu conjonctif et peut faciliter l'extension de l'infection aux tissus adjacents et peut être recherchée par viscosimètre (Makris G et al., 2005).

-Fibronlysine ou staphylokinase:C'est une enzyme qui active le plasminogène. Elle agit sur le plasma humain, le chien, le cobaye et le lapin, et elle est généralement produite par les souches d'origines humaines. Cette substance thermolabile est antigénique, caractérise les souches pathogènes humaines (Avril et al., 2003).

Chapitre II: Les infections nosocomiales et communautaires

1. Généralités:

Staphylococcus aureus est une bactérie qui se trouve couramment sur la peau ou dans le nez des personnes saines. Certaines espèces de Staphylocoques pathogènes sont faciles à traiter et d'autres non. Les Staphylocoques qui sont résistantes à la méthicilline (SARM) sont difficiles à traiter, les infections au SARM peuvent entraîner de graves complications qui mettent la vie des patients en danger (**Breche et al., 1988**).

Les SARM se propagent principalement par un contact de peau ou par contact avec des articles contaminés par ces bactéries. Les personnes ayant des systèmes immunitaires affaiblis et souffrant de maladies chroniques sont les plus exposés à l'infection par les SARM et il s'est avéré que le SARM se propage facilement dans des établissements de soins et de santé (**Aubry et al., 2004**).

Le SARM est un *Staphylococcus aureus* résistant aux pénicillines semi-synthétiques, dont la méthicilline. Apparu dans les années 1960 (**Loffler CA, Macdougall C, 2007**), il était au début principalement acquis en milieu hospitalier (SARM-H ou SARM nosocomial), et par la suite, des cas d'infections causées par des SARM acquis en milieu communautaire (SARM-AC) ont été décrits (**Fridkin SK et al., 2005**).

2. Les infections nosocomiales :

2.1. Définition: Les infections nosocomiales (IN) sont des infections contractées dans un établissement de santé. Le terme nosocomiale, vient du grec « nosos » signifiant maladie et secondairement de « nosokomeone » qui signifie hôpital ; il qualifie ce qui se rapporte à ce milieu, ce qui contracte lors d'un séjour hospitalier. Cette définition surprend lorsqu'on pense que les patients viennent à l'hôpital pour se faire soigner et non pour devenir plus malades (**Dia N.M et al., 2008**).

De manière générale, ces infections acquises peuvent être endogènes, c'est-à-dire issues d'une cause interne, par exemple lorsque le malade est contaminé par ses propres germes.

Elles peuvent aussi être exogènes, si elles sont transmises d'un malade à l'autre, disséminées par le personnel ou encore si les agents pathogènes sont présents dans l'environnement hospitalier (Ellenberg E, 2005).

2.2. Sites infectieux : Le site d'une infection est variable selon l'unité de soins, le service d'admission, les méthodes thérapeutiques et les mesures préventives (Hamza, 2010).

Parmi les infections nosocomiales; les infections urinaires qui représentent 35% de contamination, les infections respiratoires 12%, les infections post-opératoires 17%, les bactériémies nosocomiales 6% et les infections par cathéter (4%) (H. Wisplinghoft et al., 2004).

Les agents pathogènes les plus contractés à l'hôpital sont *S.aureus* (19,5%), *E.coli* (18,1%),

Staphylococcus à coagulase négatifs (14,5%), *Pseudomonas aërugino*sa et *Klebsiella* sp (9,3%).

On retrouve également le *clostridium difficile*, le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), et les *entérocoques* résistant à la vancomycine (ERV) (Gerard j. Tortora, 2011).

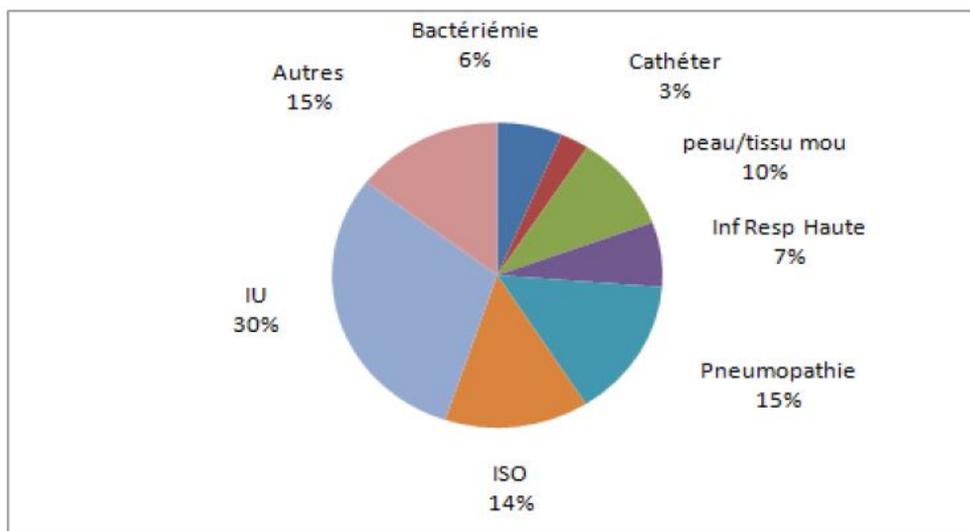


Figure 03: Répartition des infections nosocomiales en fonction du site (Botterelet et al., 2004)

2.3. Mode de transmission : les différents modes de transmission des micro organismes dans un milieu hospitalier sont:

- **Manu-portage:** transmission des germes d'un individu à un autre par l'intermédiaire des mains.
- **L'auto-infection:** le patient s'infecte par ses propres germes (les immunodéprimés).
- **L'hétéro-infection:** l'infection vient d'un autre malade, souvent manu-porté.
- **L'exo-infection:** à cause du matériel resté en contact avec des germes ou lors d'une erreur commise dans une intervention chirurgicale.
- **La xéno-infection:** à cause des personnes venant de l'extérieur (personnel, visiteurs(Wertheim HF, 2005)).

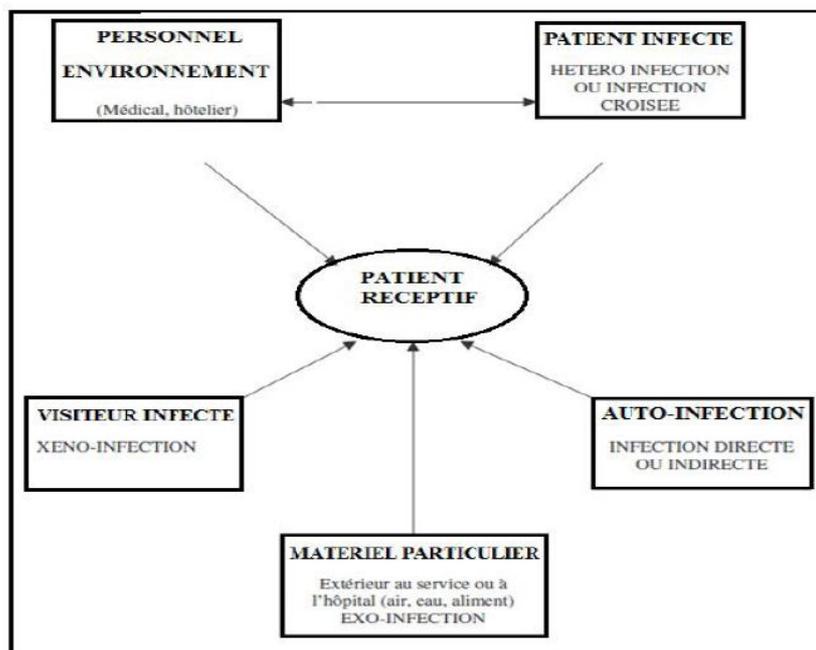


Figure 04: Transmission de l'infection hospitalière(Cosgrove SE,2003).

2.4. Les services à risque : À l'intérieur des établissements de soins, les services les plus touchés sont la réanimation avec des proportions moyennes de l'ordre de 30% de personnes infectées, et la chirurgie (de 7% à 9% selon le type) (Traore B et Diallo G,2007).

Tableau01:Taux d'infection dans les services hospitaliers(Wisplinghoff H,2003).

Service	Taux d'infection(%)
Réanimation	28,1%
Chirurgie	7,4%
Médecine	7,2%
Gynécologie-Obstétrique	2,7%
Pédiatrie	1,4%

2.5. Les risques de contamination :

Les infections nosocomiales sont un véritable problème de santé publiques car elles ont à la fois un coût humain et économique, une fréquence importante, et des conséquences plus ou moins graves.

Les risques et les conséquences des infections nosocomiales peuvent être bénins, ou allonger la durée d'hospitalisation, ou avoir des conséquences plus graves comme un handicap, une incapacité à la fin d'hospitalisation, ou une menace vitale (Jarvis WR,1996).

3. Les infections communautaires :

3.1. Définition:

L'infection communautaire correspond à un type d'infection qui se propage au sein d'une population regroupée dans un espace relativement restreint et confiné. Ces infections peuvent survenir dans des locaux, des habitations, des immeubles dotés de systèmes d'aération mal entretenus et contaminés par des germes(Tattevin,2011).

3.2. Sites infectieux:

Parmi les infections communautaires: Infection de la peau et des tissus mous:abcès,cellulite,myosites(infection des muscle).Elle peut aussi s'étendre aux autres tissus et organes et des infections très graves comme la pneumonie nécrosante,fasciite nécrosante et d'ostéomyélite.

Parmi les agents responsables,le plus fréquent E.coli(70-90%),Staphylococcus saprophyticus(5-10%),les entérocoques et plus rarement (Klebsiellaspp, Entérobacterspp,Serratiaspp) (David MD et al,2006; Sax H et al.,2006)

.3.3. Mode de transmission :

- **Les infections d'origine endogène** :La flore microbienne du patient lui même
- **Les infections d'origine exogène** :
 - Le personnel soignant est exposé lors de blessures avec du matériel contaminé ou de projections de liquides biologiques sur les muqueuses.
 - .Pour le patient,le risque est surtout lié à l'utilisation de matériel contaminé,essentiellement du matériel réutilisable insuffisamment décontaminé(BaudrillerN,2001 ; C-Clin Sud,2000).
 - Plus exceptionnellement,il a pu s'agir d'une transmission directe d'un soignant à un patient.

- Les surfaces et les objets peuvent jouer un rôle de relais dans la chaîne de transmission de l'infection :encontaminant les mains ou du matériel qui se trouve par la suite en contact avec le patient.

4. La différence entre SARM nosocomiale et SARM acquise :

Le SARM était au début principalement acquis en milieu hospitalier (SARM-H ou SARM nosocomiale) et par la suite, des cas d'infection communautaire causées par des SARM ont été décrits(**Fridkin SK et al.,2005**).

4.1.Épidémiologie: Certains individus sont plus à risque d'être porteurs du SARM, en fonction de l'origine de la bactérie :

-Le SARM-H est majoritairement trouvé chez des individus ayant un lien avec le milieu hospitalier ou avec une prestation de soins par contre le SARM-AC est plus fréquemment trouvé chez certains groupes d'individus ayant des contacts étroits entre eux(athlètes pratiquant des sports de contact,utilisateurs de drogues par injection,militaires,détenus,communautésautochtones, service de garde) (**Rybak MJ,2005**).

4.2.Sur le plan génétique: les SARM-AC sont différents des SARM-H selon plusieurs critères:

-La résistance à la méthicilline chez les SARM est portée par le gène mec A.Or ce gène est retrouvé sur un élément génétique mobile unique,appelé Cassette Chromosomale staphylococcique(SCCmec).Cette cassette contient les gènes responsables de la régulation de l'expression du mecA.(**Rybak MJ et LaPlante KL,2005**).

-Cinq types majeurs de mecCCS ont été identifiés.Les types I,II et III sont ceux retrouvés le plus fréquemment dans les isolats du SARM.N. Ils confèrent(**Rybak MJ et LaPlante KL,2005**).

Une résistance à d'autres antibiotiques en plus des bêta-lactames. Les types IV et V sont plus petits, caractérisant plutôt les SARM-C et ne confèrent pas de résistance à d'autres antibiotiques que les bêta-lactames (Rybak MJ et LaPlante KL, 2005).

Contrairement aux souches nosocomiales, les souches SARM-AC peuvent posséder le gène codant de la PLV. Bien qu'il soit possible de retrouver ce gène chez les souches de SARM nosocomial (moins de 5%) (Ruhe JJ et al., 2007; Singer AJ, Talan DA, 2014).

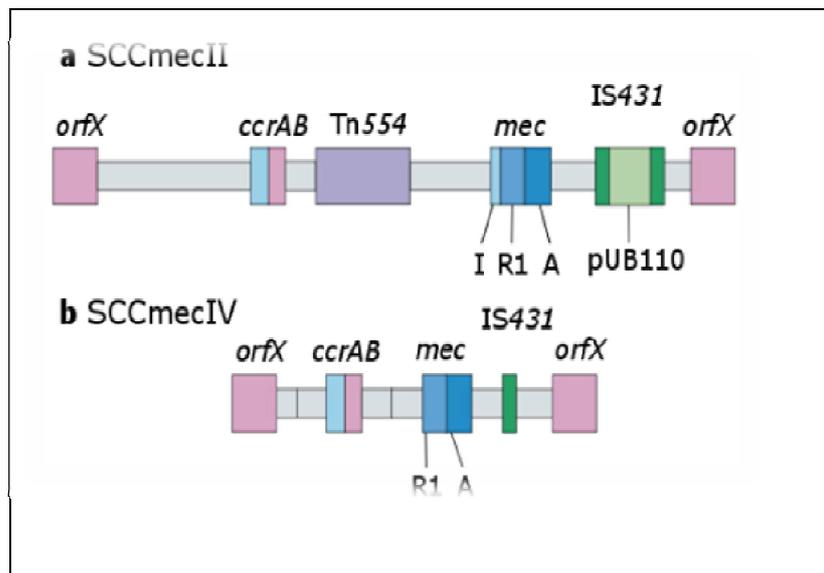


Figure05: Comparaison de la cassette de résistance du SARM-NetSARM-AC

4.3. Résistances aux antibiotiques : Les infections staphylococciques communautaires sont dues le plus souvent à des souches sensibles aux antibiotiques, à l'exception des bêta-lactamines, alors que les infections nosocomiales sont le fait de staphylocoques coagulase positive ou négative présentant souvent une poly résistance aux antibiotiques, particulièrement aux pénicillines M) (Ruhe JJ et al., 2007; Singer AJ, Talan DA, 2014).

4.4. Tableau clinique : Chez les patients hospitalisés, le SARM est le principale responsable de plusieurs types d'infections nosocomiales, notamment des infections de plaies post-opératoires ou de cathéter, des pneumonies et des septicémies. Les infections à SARM-AC se manifestent le plus souvent par des infections bénignes de la peau, en particulier des abcès et des furoncles, mais peuvent être à l'origine d'infections très graves, même chez des individus en bonne santé, comme des pneumonies nécrosantes et des fasciites.

4.5. Virulence : Les souches communautaires sont en général plus virulente que les souches hospitalières. Ceci est due à la production des toxines virulentes appelées PLV (Panton Valentine Leucocydine). Elles détruisent les leucocytes et provoquent des chocs toxiques et/ou destructions de tissus, en particulier des poumons, qui sont mortelles dans 50% des cas, en quelques jours (Loir Y, Gautier M, 2009).

Tableau 02 : Caractéristiques du SARM-C et du SARM-N

Propriétés	SARM-C	SARM-N
Durée de la culture après l'admission	24-72h	>72h
Résistance aux antibiotiques	Résistance sélective aux bêta-lactames	Multirésistance
Clone	USA300 ou USA400	USA100, USA500, USA800
Type de CCSmec	IV (V occasionnellement)	I, II ou III
Présence de la toxine PVL	Oui (>80%)	Rare

Chapitre III : Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

1. L'Antibiorésistance :

l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne posent un problème de santé publique important qui constitue un défi pour les cliniciens, les microbiologistes, les hygiénistes et les autorités sanitaires (GOLDMANN DA et HUSKINS WC ,1997)

Les antibiotiques ont principalement deux actions sur les bactéries : bactériostatiques ou bactéricides. Il existe de très nombreux antibiotiques répartis en différentes familles selon leur mode d'action ou leur structure moléculaire. Chaque famille d'antibiotiques possède un mécanisme d'action qui lui est propre mais on peut résumer leurs actions en trois grandes catégories spécifiques qui sont :

- Action sur la paroi bactérienne comme les β -lactamines et les glycopeptides.
- Action sur les processus de synthèse d'acides nucléiques comme les Quinolones.
- Action sur les voies métaboliques comme les protéines (Aminosides, Macrolides ,Tétracyclines)(Freney J,2007)

Les bactéries ont développé plusieurs mécanismes de résistance, citons:

- Inhibition enzymatique, Réduction de la perméabilité cellulaire, Altération des sites de liaison ciblés par l'antibiotique et Pompes à efflux.

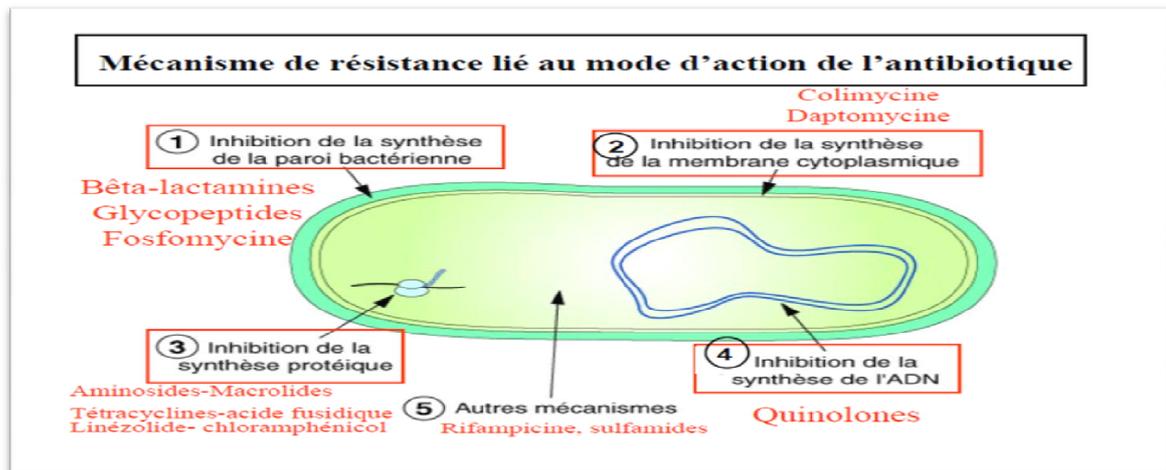


Figure06: Mécanisme de résistance lié au mode d'action de l'antibiotique (Mainardi JL, 1996).

2. Résistance de *S.aureus* aux antibiotiques:

S.aureus ne possède aucune résistance naturelle aux antibiotiques. Entre 1940 et 1950, la pénicilline était l'antibiotique de choix pour traiter les infections à *S.aureus*. Cependant la sensibilité à la pénicilline a été de courte durée suite à l'apparition de souches résistantes productrices des β -lactamases (Appelbaum, 2006). *S.aureus* possède une très grande plasticité génétique. Sous la pression de sélection des antibiotiques, il a très rapidement acquis des gènes portés par des plasmides codant pour des pénicillinases (Grundmann et al. 2006).

En 1959, la méthicilline est découverte. C'est aussi une bêta-lactamine mais dont le noyau bêta-lactame est résistant à l'action des pénicillinases. Peu après l'introduction de ce nouvel antibiotique apparaissent des souches de *S.aureus* résistants à la méthicilline (Méthicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA). En effet, les MRSA sont résistants non seulement à la méthicilline mais également à tous les autres antibiotiques de la même classe ainsi que très fréquemment à des antibiotiques appartenant à d'autres classes (Otter et French, 2010)

2.1. Résistance de *S.aureus* aux bêta-lactamines :

La famille des bêta-lactamines comprend plusieurs classes d'antibiotiques, citons les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les pénèmes (hybrides entre les pénicillines et les céphalosporines). Ces antibactériens ont tous une structure en commun: l'anneau bêta-Lactame (figure N° 07).

2.1.1. Résistance aux β -lactamines: La résistance aux β -lactamines chez les Staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP (Mainardi et al., 1996).

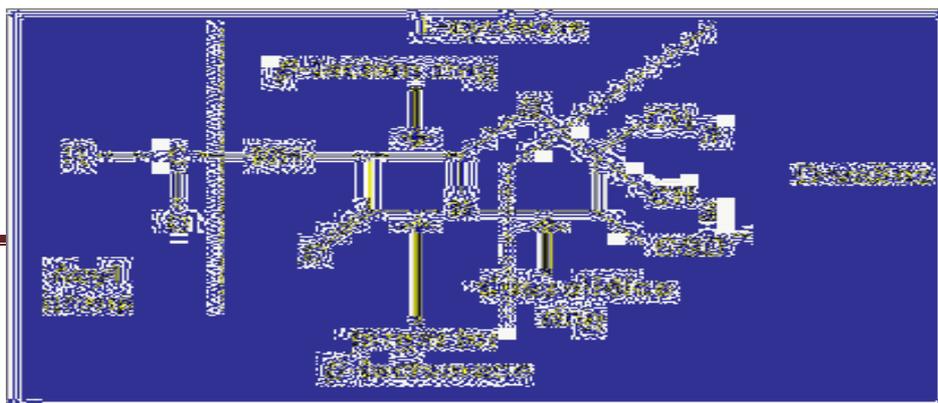


Figure 07: Structure du noyau bêta-Lactame (Poole, 2004).

2.1.2.Résistance par production de bêta-lactamases :Une bêta-lactamase est une enzyme qui hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines, les rendant inactives. L'existence d'une pénicillinase entraîne une résistance à la pénicilline G et aux pénicillines A (ampicilline, amoxicilline, etc.), aux carboxypénicillines (ticarcilline), et aux uréidopénicillines (pipéracilline). Ce mode de résistance est présent chez 90 % des isolats cliniques de *S.aureus*(Mainardi JL et al.,1996).Le gène blaZ codant pour les pénicillinases de Staphylocoque peut être porté soit par un transposon soit être chromosomique.(Mainardi JL et al.,1996).

2.1.3.Résistance par une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle : la PLP2a

Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les bêta-lactamines.

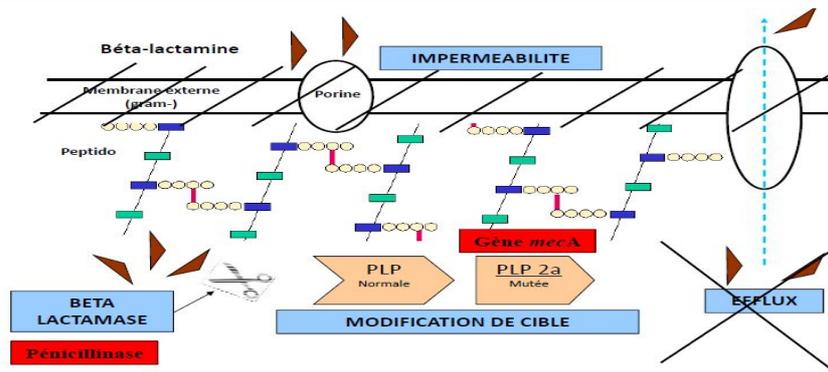


Figure08:Mécanisme de résistance de Staphylocoque aux bêta-lactamines

2.2. Résistance de *S.aureus* aux glycopeptides:

Les deux antibiotiques présents dans la famille des glycopeptides sont la vancomycine et la teicoplanine. La première molécule commercialisée est la vancomycine en 1956 et elle est d'origine naturelle car elle est produite par un champignon, *Amycolatopsis orientalis*. La teicoplanine a été commercialisée à l'époque des 1ères souches de SARM, elle est isolée d'*Actinoplanes teichomyceticus*. Ces antibiotiques sont bactéricides temps-dépendants vis-à-vis de *S. aureus* et d'action lente (environ 1 à 2 jours) (**périchon B,2009**).

La résistance du *S. aureus* est liée à une diminution de la pénétration des glycopeptides dans la bactérie. Le D-alanyl-D-alanine se retrouve en abondance dans la paroi du Staphylocoque et est capable de piéger et d'immobiliser les molécules d'antibiotiques lors de la phase de pénétration. Cette résistance est due à une anomalie de la biosynthèse du peptidoglycane et elle est connue chez les souches glycopeptide-intermediate de *S.aureus* (**GISA**) ou vancomycine-intermediate *S. aureus* (**VISA**).

En 2002, la première souche pleinement résistante à la vancomycine a été décrite, caractérisée par une CMI élevée (>32mg/L) et associée au gène vanA, résultant probablement d'un transfert horizontal d'*Enterococcus* spp (**Crossley KB,2010**).

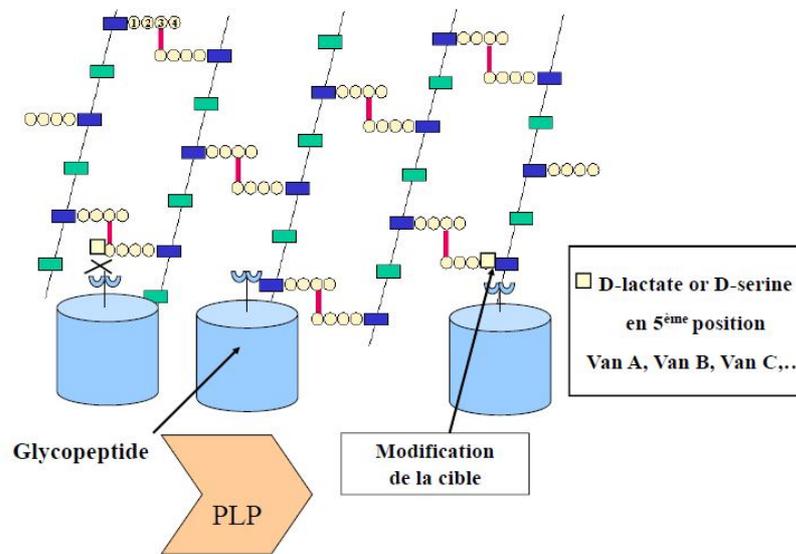


Figure 09: Mécanisme de résistance aux glycopeptides(Mainardi JL,1997).

2.3. Mécanisme d'action des macrolides, lincosamides et synergystines:

Les macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS) inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosomes et du complexe ARN de transfert-peptide. Cela entraîne une terminaison réversible de l'élongation protéique.

Trois mécanismes sont impliqués: une modification de la cible de l'antibiotique, un mécanisme d'efflux et des enzymes inactivatrices.

Le mécanisme de résistance le plus connu est une modification de la cible ribosomale. La partie ribosomale est modifiée par une attaque enzymatique, l'adénine en position 2058 de l'ARNr23s se retrouve alors méthylée.

Les enzymes en cause sont des méthylases codées par des gènes de la famille erm (erythromycinresistancemethylase). La méthylation empêche la fixation du MLS et son action. Cette résistance peut être inductible (induite en présence de macrolides) ou constitutive (exprimée en permanence) (Leclercq, 2002).

2.4. Mécanisme de résistance des aminosides:

Le principal mécanisme de résistance aux aminosides (kanamycine, amikacine, tobramycine, gentamicine) est lié à des modifications de la cible ribosomale par des enzymes codées par des gènes plasmidiques ou transposables. Il existe trois enzymes de résistance, chacune d'entre elles conférant un phénotype de résistance spécifique aux aminosides

- Une résistance de haut niveau à la kanamycine et l'amikacine (phénotype K); la résistance à la kanamycine traduit la présence d'une enzyme inactivatrice aminoglycosidephosphotransférase (3')-III.
- Une résistance de haut niveau à la kanamycine, à l'amikacine et à la tobramycine (phénotype KT); la résistance à la kanamycine et à la tobramycine due à la production d'un aminoglycosidenucléotidyltransférase (4') (4'').
- Une résistance de haut niveau à la kanamycine, à l'amikacine, à la tobramycine et à la gentamicine (phénotype KTG) due à la synthèse d'une enzyme bifonctionnelle, aminoglycosideacétyltransférase (6')-phosphotransférase (2''). (**Quincampoix et Mainardi, 2001 ; Leclercq , 2002**).

2.5. Résistance de *S.aureus* aux cyclines:

Il existe deux types de résistance aux tétracyclines. La première est liée à un plasmide (le plus connu est PT181). Elle entraîne un efflux actif des tétracyclines grâce à des protéines Tet et situées dans la membrane interne. La seconde résistance entraîne une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines Tet. La protéine Tet (K) est une des protéines qui entraîne l'expulsion des tétracyclines et les protéines Tet(O) ou Tet(M) vont elles protéger les sites actifs ribosomiques (Courvalin P, 2006).

2.6. Résistance à la méthicilline:

La résistance à la méthicilline est principalement due à la production d'une nouvelle PLP, la PLP2a ayant une affinité diminuée pour les bêta-lactamines (Berger-Bächli, 1999). Cette PLP2a est une transpeptidase qui peut catalyser à elle seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont saturées par les bêta-lactamines (Garner *et al.*, 1988).

La PLP2a est codée par le gène *mecA* (Berthelot *et al.*, 2001) situé dans un grand fragment d'ADN chromosomique appelé *mec DNA*, retrouvé uniquement chez les souches résistantes à la méthicilline et intégré au niveau d'un site spécifique de *S.aureus* (Hisata *et al.*, 2005). Les travaux de Katayama *et al.*, (2000), ont permis de montrer que le *mec DNA* appartient à une nouvelle classe d'éléments génomiques mobiles appelés SCCmec.

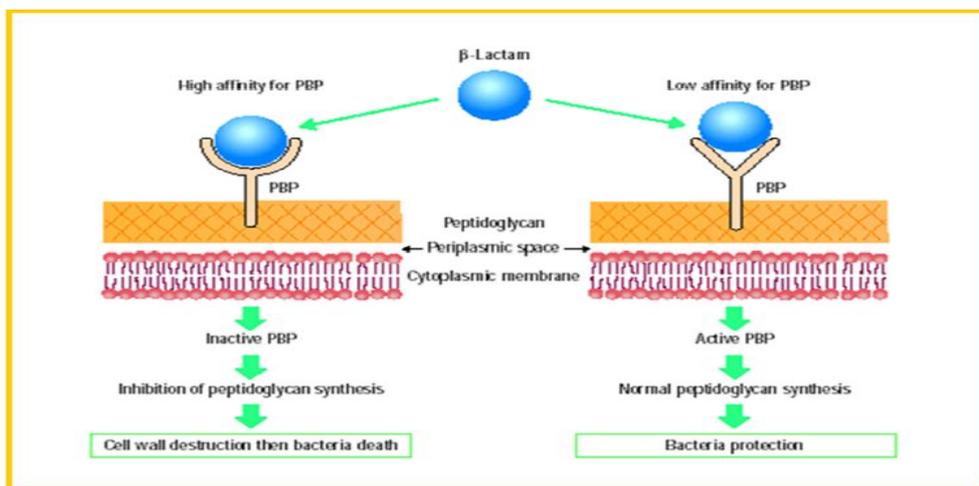


Figure 10: Mécanisme de résistance de SARM par PLP2

3. Épidémiologie des SARM:

L'Epidémiologie de la résistance chez des SARMa été marquée ces dernières années,d'une part,par la communautarisation des SARM et ,d'autre part,par l'émergence de phénotypes de résistances aux glycopeptides.

Apparus en 1961 aux Royaume-Uni suite à l'acquisition par des clones épidémiques d'une cassette chromosomique staphylococcique(SCCmec) puis ces SARM ont diffusé dans le monde entier.Latransmission est croisée,interhumaine et se fait essentiellement par manuportage.Les souches de SARM sont responsables d'infections nosocomiales associées à une surmortalité chez les patients.Eneurope,la proportion des SARM varie entre 1 et 50% selon un gradient croissant du Nord au Sud.L'émergence de nouveaux clones très épidémiques porteurs d'une SCCmec de type IV et producteurs de toxines telles que la Leucocidine de Panton-Valentine(LPV) ont été décrites,depuis le début des années 2000,et liées à la diffusion d'un clone multi-résistant.

La prévalence des SARM communautaires de LPV au sein de la population française est faible et correspond surtout à la diffusion de souches appartenant au clones ST80,clonestrès répandu en Afrique du Nord (**Pierre-Yves et al.,2010**).

An orange scroll graphic with a gradient from light to dark orange. It has a vertical strip on the left side and a horizontal strip at the bottom, both with rounded ends. The scroll is unrolled in the center, revealing the text.

*Matériels et
méthodes*

1. Objectif de l'étude : Les objectifs de cette étude consiste à :

- L'isolement et l'identification des SARM à partir des prélèvements hospitaliers et communautaires
- Etudier le profil de résistance des SARM vis-à-vis différentes familles d'antibiotiques.
- Comparaison de l'antibiorésistance entre Les SARM nosocomiales et les SARM acquises.

2. Cadre de l'étude : Durant la période allant de Janvier au moi d'Avril 2019, notre étude est réalisée au niveau des établissements public hospitalier dans différents services des hôpitaux du TEBESSA dans une période de 04 mois pour la recherche des souches de SARM responsables des infections communautaires et nosocomiales.

Tableau03: les prélèvements nosocomials .

N ^o de Prélèvement	Adresse	Service	Nature de prélèvement	Date
N ₁	Maternité KHALDI	Maternité	Pus	23 janvier
N ₂ ,N ₃ ,N ₄	Clinique ALIA SALEH	Poste opératoire	Pus	25 /30 Janvier
N ₅ ,N ₆ ,N ₇ ,N ₈	L'hôpital de BAKARIA	Médecine homme	Pus	1/10 Février
N ₉ ,N ₁₀	L'hôpital de BAKARIA	Médecine femme	Pus	15 /25 Février
N ₁₁ ,N ₁₂ ,N ₁₃ ,N ₁₄	Maternité KHALDI	Grossesse à haut risque GHR	Urines	27 Février/ 10 Mars
N ₁₅	L'hôpital de BAKARIA	Médecine homme	Urines	15 avril

Tableau04: les prélèvements communautaires

N ^o de Prélèvement	Adresse	Service	Nature de prélèvement	Date
C ₁ ,C ₂ ,C ₃	La clinique ALIA SALEH	Clinique rénale	Pus	20 /25Janvier
C ₄ ,C ₅	Hôpital du BAKARRIA	Médecine femme	Pus	2/6 février
C ₆ ,C ₇	Maternité KHALDI	Grossesse à haut risque	Urines	10 Février
C ₈ ,C ₉ ,C ₁₀ ,C ₁₁	Maternité KHALDI	Maternité	Prélèvement vaginale	12 / 20 février
C ₁₂	Hôpital du BAKARRIA	Médecine homme	Pus	15 mars
C ₁₃	La clinique ALIA SALEH	Orthopédie	Pus	22 Mars
C ₁₄ ,C ₁₅ ,C ₁₆	Hôpital du BAKARRIA	L'infectieux	Pus	25Mars /3 Avril
C ₁₇	Hôpital du BAKARRIA	Médecine femme	Urines	10 avril
C ₁₈	Hôpital du BAKARRIA	L'infectieux	Pus	18 Avril

3. Prélèvements :

Les prélèvements provenant de divers produits pathologiques (urines, pus et muqueuses vaginales) ont été effectués selon la technique appropriée à chaque prélèvement ; ensuite, les souches de *S.aureus* ont été isolées et identifiées.

Les différentes manipulations microbiologiques ont été réalisées dans le laboratoire de microbiologie appliquée de l'université de Tébessa.

3.1. Prélèvement de Pus :

Les pus sont des suppurations qu'elles soient superficielles (escarre, ulcère, furoncle, etc...) ou profondes (ostéomyélite, spondylodiscite, d'origine digestive, etc.). À côté de ces suppurations primitives, on distingue aussi les suppurations secondaires postopératoires ou post-traumatiques.

Le prélèvement de pus est effectué par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction à l'aide d'une seringue pour les infections profondes, il doit porter exclusivement sur le pus et éviter toute contamination.

Ce produit pathologique étant souvent poly microbien et il est lui-même un excellent milieu de culture.



Figure11: Prélèvement de pus

4. Conditions de prélèvement :

Les prélèvements sont acheminés au laboratoire de l'université dans les délais plus brefs, qui ne dépasse pas les quatre heures entre la collecte du prélèvement et l'arrivée, les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures pour l'apparition de trouble en bouillons nutritif puis ensemencé directement.

5. Isolement:

Dans le but d'isoler les Staphylocoques, chaque échantillon est cultivé sur le milieu Chapman. L'isolement a été réalisé par repiquage successif sur gélose nutritif et sur le milieu Chapman, incubés 18 à 24h à 37°C.

- **Gélose nutritive (GN):** 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 qu'il y avait des bactéries à l'origine.
- **Milieu de Chapman :** Il est utilisé en bactériologie médicale, c'est un milieu hypersalé à 7,5% de NaCl 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.

6. Purification et conservation :

Les isolats purifiés après une série de repiquage pour assurer la pureté des souches, ont été conservés par ensemencement sur gélose nutritive inclinée par l'anse de platine ou avec une pipette Pasteur au réfrigérateur à 4°C.

7. 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**).

7.1. Examens macroscopiques:

Consiste à étudier la taille, la forme, l'aspect, le contour, la surface et la couleur des colonies sur les milieux gélose nutritive et Chapman .

7.2. Examens microscopiques :

7.2.1. Coloration de Gram

La coloration de Gram est réalisée à partir du milieu de Chapman, pour confirmer la présence de Cocci en diplocoques et en grappes de raisin.

a-principe :

Le principe de coloration de Gram repose sur les différences de composition chimique de la paroi des bactéries (1à2, 5% des liquides chez les bactéries à Gram positif, 10à22% chez les Gram négatif (Tartora J, et al., 2003).

b-Technique :

Les étapes de coloration de Gram	
Frottis	On dépose sur une lame propre une goutte d'une suspension bactérienne. Faire sécher la lame par passage sur la flamme du bec benzène (un frotti) Déposer la lame sur le support au-dessus de l'évier ;
La coloration violet de gentiane	Poser des gouttes de colorant violet de Gentiane sur le frotti, laisser agir pendant 1 min, puis rincer la lame parfaitement par l'eau ; recouvrir la lame une autre fois par le Lugol et laisser agir une minute puis rincer
La décoloration à l'alcool	Tenir la lame inclinée et faire couler pendant 30 secondes de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore, rincer immédiatement à l'eau ;
La coloration au fuchsine	Recolorer avec de la fuchsine pendant 1 min ; rincer à l'eau et égoutter ; entre 2 morceaux de papier buvard et laisser sécher
L'observation	Observer avec une goutte d'huile à immersion avec l'objectif 100.

7.3. Identification biochimique : Suite aux études macroscopiques et microscopiques, toutes les souches ont été identifiées grâce aux tests biochimiques (production de catalase, de coagulase).

7.3.1. Test de Catalase :

Ce test permet la détection de l'enzyme « catalase » qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante :



a- Principe :

La catalase est un caractère constant chez les Staphylocoques. Celle-ci a pour effet de réduire le peroxyde d'hydrogène qui est un produit très toxique.

La mise en évidence de la catalase permet de distinguer parmi les cocci à Gram positif les Staphylocoques dont la catalase est positive et les Streptocoques à catalase négative.

b- Technique :

Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de H_2O_2 , puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur.

c-Lecture :

- Formation des bulles, la bactérie possède la catalase.
- Absence des bulles, la bactérie ne possède pas l'enzyme.



Figure12 : Recherche de catalase .

7.3.2. Test de coagulase :

Le test de la coagulase permet de mettre en évidence l'aptitude des Staphylocoques à coaguler le plasma ; c'est le principal test caractérisant *S.aureus*.

a-principe:

La coagulase est une protéine de 60kDa qui se fixe avec la prothrombine sur un site de liaison situé en N-terminal. Elle forme avec la prothrombine un complexe nommé staphylothrombine. Ce complexe va induire une polymérisation du fibrinogène en fibrine et ainsi la formation d'un thrombus. Le plasma de lapin lyophilisé est utilisé pour la détection de la coagulase libre produite par *Staphylococcus aureus* .

La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation du plasma qui se traduit par la formation d'un caillot de coagulation.

b. Technique

- Réaliser une culture en bouillon BHIB.
- Étuver 24h à 37°C.
- Mettre dans un tube à hémolyse 4 gouttes de bouillon agité et 4 gouttes de sérum
- Placer le tube au bain d'eau à 37°C durant



Figure13 :Test de coagulase

c. Lecture:

- présence de caillot ; coagulase positive.
- absence de caillot ; coagulase négative.

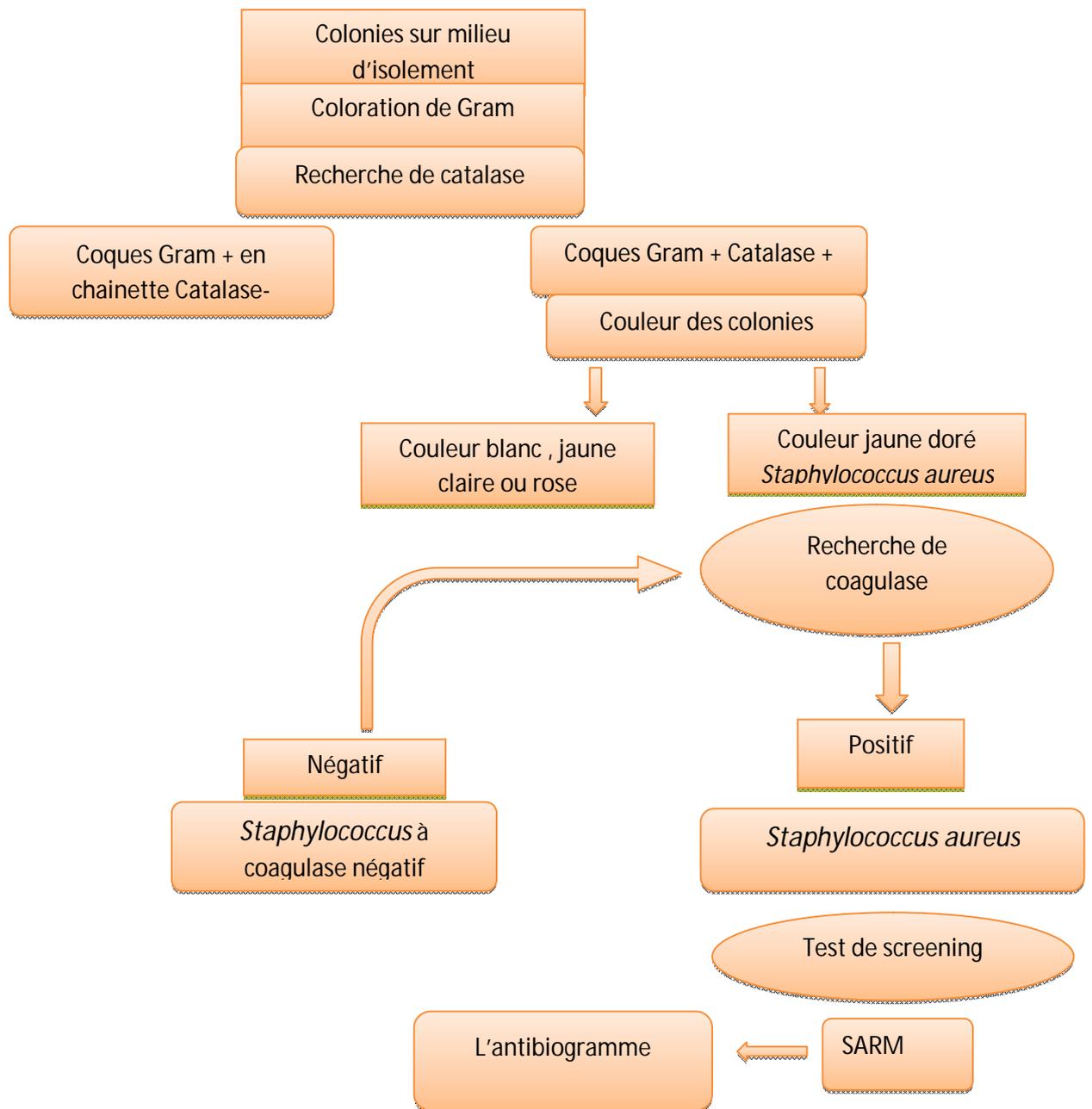


Figure14: Organigramme de l'identification de *staphylococcus aureus*

7.3.3. La fermentation du mannitol:

Le *S. aureus* est capable de fermenter le mannitol. Le mannitol est un polyol et on peut le retrouver comme édulcorant ou bien comme excipient dans les médicaments. Généralement on détecte la fermentation du mannitol par un changement de couleur du milieu de culture. Par exemple pour le milieu BD Mannitol Salt Agar®, le milieu passe de la couleur rouge à la couleurjaune s'il y a fermentation du mannitol (**Figure15**). Ce changement de couleur se produit grâce à un indicateur coloré, dans cet exemple, l'indicateur est le rouge de phénol. Cependant, certaines souches de staphylocoques à coagulase négative fermentent également le mannitol.



Figure15: Fermentation du mannitol par des souches de *S. aureus*

8. Test de screening à l'oxacilline pour *S. aureus*: Recherche de la résistance de *S. aureus* à la méticilline (ou Oxacilline):

Le dépistage du SARMa été réalisé sur milieu Mueller Hinton additionné de 4% de NaCl et contenant une concentration finale d'Oxacilline de 6µg/ml selon les lignes directrices du (CLSI) (*Clinical and Laboratory Standards Institue , 2008*) .

a- Technique:

- Diluer 6mg d'oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1g) dans 10 ml d'eau distillée stérile, puis faire une solution au 1/10ème.
- Mettre 2ml de cette solution dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre, ajouter 18 ml de gélose Muller Hinton additionnée de 4% de NaCl, mélanger en faisant des mouvements rotatoires

- À partir d'une culture pure de 18 h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MacFarland, ou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.
- L'ensemencement se fait par spots, en appliquant verticalement sur la gélose l'extrémité d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne.
- Les souches de références doivent être testées dans les mêmes conditions.
- Incuber 24 h à 37°C.

b- Lecture: la culture de plus d'une colonie de la souche test suffit pour indiquer une résistance à l'oxacilline.

9. Détermination de la résistance aux antibiotiques « Antibiogramme »:

La résistance des souches aux antibiotiques est testée par la méthode de diffusion en milieu gélose «Miller Hinton (MH)» ; c'est une technique rapide basée sur l'observation de la croissance bactérienne en présence d'un gradient de concentration de l'antibiotique obtenu après sa diffusion à partir du disque. La croissance bactérienne s'arrête lorsque les bactéries sont en contact avec la concentration minimale d'inhibition autour du disque d'antibiotique.

9.1. Technique:

- La gélose Muller Hinton doit être coulée en boîtes sur une épaisseur de 4mm et séchées avant l'emploi.
- A partir d'une culture jeune de 18 à 24h, préparer une suspension d'une colonie dans 10ml de l'eau physiologique sous agitation à l'aide d'un vortex.
- Prélever 1ml du mélange précédent et mettre dans 9ml de l'eau physiologique puis verser sur la boîte de pétri et laisser pendant 10min.
- Jeter l'excès et laisser reposer 5min puis déposer les disques des antibiotiques à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile.
- Etuver 18 à 24h à 37°C.

-Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés et comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture, puis la bactérie est classée dans l'une des catégories; sensible, intermédiaire ou résistante. (Annexe3).

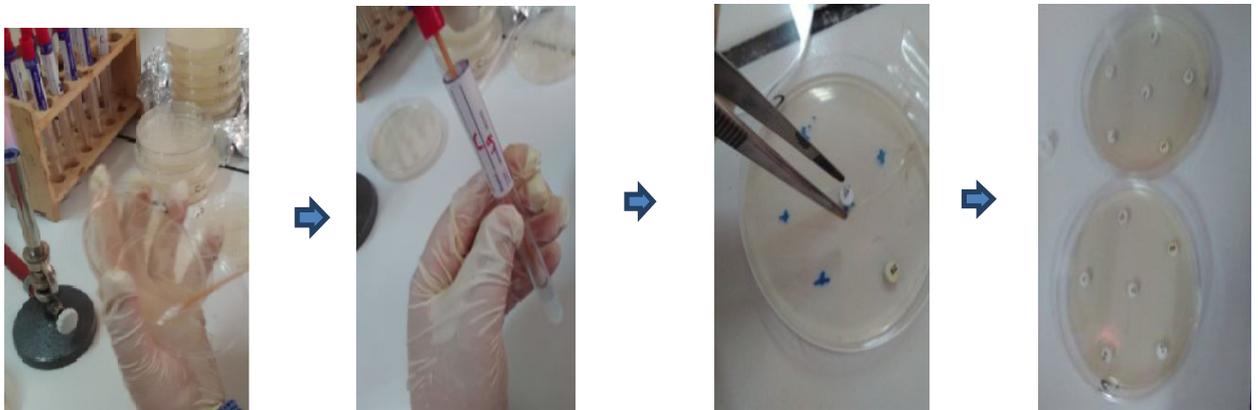


Figure16 : Les étapes de l'antibiogramme

9.2. Les antibiotiques testés :

Pour l'étude de la sensibilité du *S .aureus* aux antibiotiques, vingt antibiotiques connus pour être actifs sur cette bactérie sont testés. Ils appartiennent à différentes familles représentées dans le **tableau 5**.

Tableau05 : Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés(CASFM, 2010)

Antibiotiques	Symbole	Charge du Disque
Bétalactamine :		
Ampicilline	AM	10 µg
Ticarciline	TIC	100 µg
<i>Piperacilline</i>	PI	
Aminosides		
Gentamicine	GN	30 UI
<i>Amikacine</i>	AN	30µg
Macrolides		
<i>Pristinamycine</i>	PT ; PM	15 µg
Glycopéptides		
<i>Vancomycine</i>	VA	30µg
Les cyclines		
Tétracyclines	TE	30µg
Autre		
<i>Amoxicilline</i>	AMX	25 µg
<i>Colistin sulfate</i>	CS	
<i>Ofloxacin</i>	OFX	5µg
<i>Chloramphenicole</i>	C	9 Mg

9.3. Application des disques d'antibiotiques :

- Les disques choisis sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu
- On dépose 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm. Deux disques doivent être éloignés au minimum de 30 mm et une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque du bord de la boîte.
- Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.
- Laisser diffuser les disques après leur application à température ambiante pendant 15 min, puis incuber dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

9.4. 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.



*Résultats et
discussions*

Résultats et Discussion

1. Les isolats bactériens:

Durant quatre mois, allant de janvier au Mai 2019, 22 souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolées à partir de 33 prélèvements hospitaliers et communautaires dans la wilaya de Tébessa; dont 15 souches étaient identifiées comme SARM. L'étude pratique a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie, Département de Biologie Appliquée, Université Cheikh Larbi Tébessi. La purification des souches a été basée sur des caractères culturels et des caractères morpho-physio-biochimiques.

1. Répartition des SARM selon la nature de prélèvement:

10 SARM ont été isolées de pus, 4 souches des urines et une souche des prélèvements vaginaux. Les pourcentages sont mentionnés dans le tableau suivant:

Tableau 6 : les pourcentages de différents prélèvements.

Les prélèvements	Nombre	Pourcentage
Pus	10	(66,67)
Urine	4	(26,67)
Muqueuse Vaginale	1	(06,67)

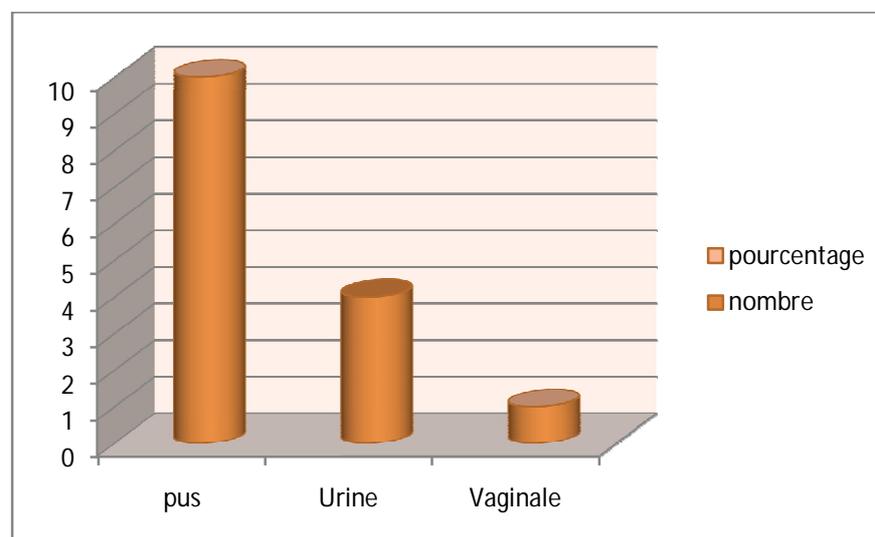


Figure 17: Répartition des SARM selon l'origine de prélèvement

Résultats et Discussion

On note que le pourcentage élevé des SARM est isolé des prélèvements de pus ce qui prouve que la majorité des infections purulentes sont dus au *Staphylococcus*, ceci corrobore avec les résultats de P. Martin et al. Une augmentation épidémique de l'incidence des infections cutanées à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) d'origine communautaire.

L'isolement des SARM des urines est moindre; il est de (26.67)%, ceci s'explique par la prolifération importante des entérobactéries dans les infections urinaires.

3. Identification bactérienne :

Un total de 33 isolats ont été isolés et purifiés sur milieu gélose nutritive (GN) et Chapman.

3.1. Aspect macroscopique :

♦ **Milieu de Chapman:** les colonies sont souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune, la plupart des souches de *S. aureus* fermentent le mannitol et font virer le milieu du rouge au jaune orangé. (Kloos W.E. and Bannerman TL (1999)).



Figure 18: Aspect de *S. aureus* sur milieu Chapman .

♦ **Gélose Nutritive:** Sur gélose nutritive, en 24 heures, les colonies sont lisses, les souches *S. aureus* produisant en général un pigment jaune. (Kloos W.E. and Bannerman TL (1999)).

Résultats et Discussion

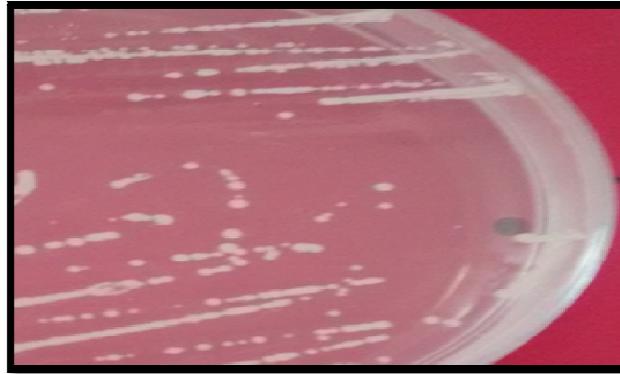


Figure19 : Aspect de *S. aureus* sur gélose nutritif

3.2. Aspect microscopique

- **Coloration de Gram:** Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré la présence de Coccià Gram positif en diplocoque et en grappes de raisin, colorés en violet.

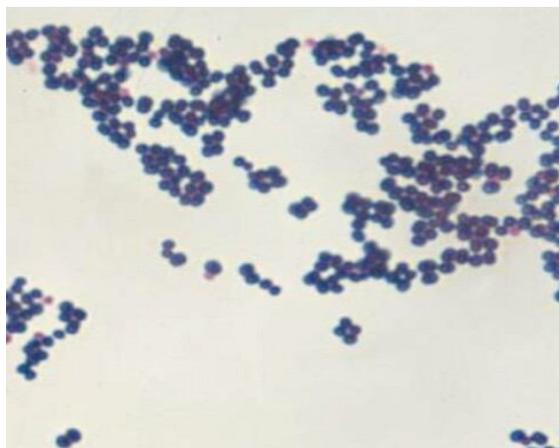


Figure 20 : Coloration de Gram

Résultats et Discussion

3.3. Identification biochimique des souches

- **Test de catalase:**Le test de catalase montre une apparition des bulles avec dégagement de dioxygènes produits par une colonie mise en contact avec l'eau oxygéné. 22 souches ont donné un test positif.

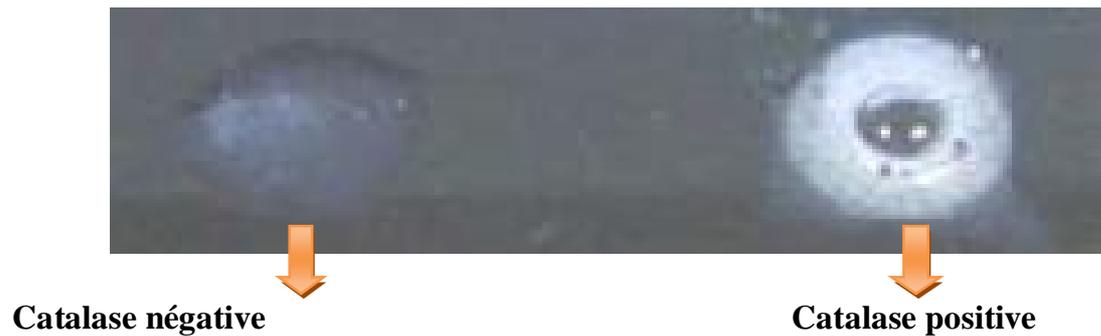
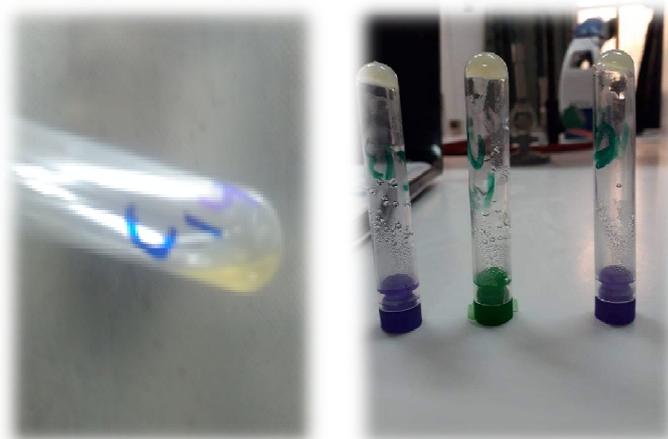


Figure 21 : production de catalase par les cocci à gram positif.

- **Test de coagulase libre :**Les Cocci à Gram positif, catalase positive, testés pour la production d'une coagulase, présentent un phénotype variable. 22 souches ont été identifiées coagulase positive



Coagulase négative Coagulase positive

Figure 22: résultat du test de coagulase libre.

Résultats et Discussion

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

- **Test de fermentation de mannitol :** La fermentation du mannitol se traduit par une coloration jaune (claire ou pâle) du milieu initialement coloré en rouge. 22 souches sont mannitol positives.



Figure 23:fermentation de mannitol + .

4. Détection de la méthicillino-résistance :

Parmi les 22 souches de *S. aureus* testées, le test de screening nous a permis de détecter 15(68,18%) souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline et 7(31,82%) *S.aureus* sensible à l'oxacilline.

Résultats et Discussion

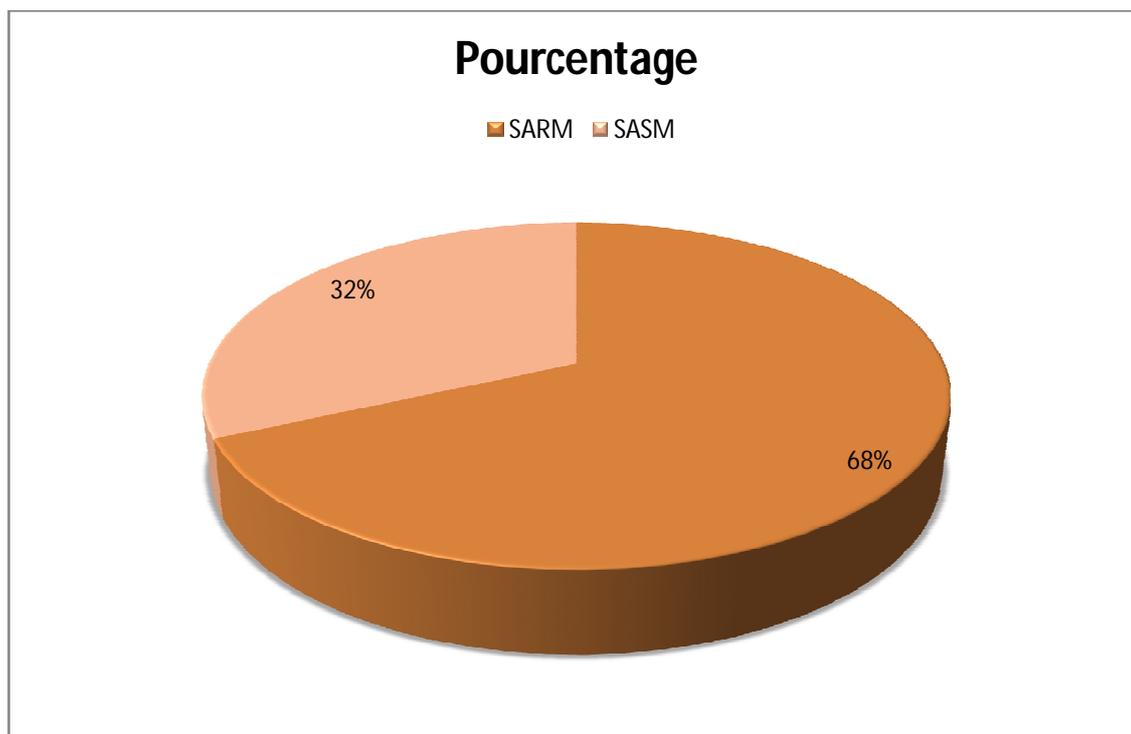


Figure 24: Répartition des *S. aureus* selon la résistance à la méthicilline.

Les 15 SARM isolées de différents prélèvements ont montré la prévalence élevée de la résistance des *S. aureus* à l'oxacilline avec un pourcentage de (68,18%) . Alors que les *S. aureus* sensibles sont 7 souches (31,82%). Ces résultats montrent que les *Staphylococcus aureus* ont découvert une résistance très élevée dans les milieux hospitaliers; ce qui corrobore avec les résultats de **Touaitia, 2016** (44.6 %). Et sont éloignés des résultats de **T. Hubiche et al.** dont le pourcentage trouvé est de (8.3%) de SARM dans un milieu hospitalier.

5. Résultat de l'antibiogramme

5.1. Sensibilité des souches de *S. aureus* aux antibiotiques:

Dans les **tableaux**, nous rapportons les données de l'antibiogramme standard effectué sur les 15 SARM (8 nosocomiales et 7 communautaires).

Résultats et Discussion

5.1.1. SARM nosocomiales:

Tableau 7 : Profils de résistance et sensibilité aux antibiotiques des SARM_N(CA -SFM 2013) (EUCAST 2018)

Souches			N1	N4	N7	N8	N10	N11	N13	N14
ATB	S	R								
AM	≥29	≤28	R	R	R	R	R	R	R	R
TC	≥23	≤22	R	R	19 R	14mm R	R	33 S	33 S	R
PIP	≥18	≤17	12 R	R	13 R	15 R	R	R	20 S	11 R
HLG	≥18	<17	29 S	25 S	30 S	29 S	29 S	23 S	22 S	26 S
AK	≥18	<18	20 S	22 S	19 S	25 S	9 R	10	22 S	19 S
RP	≥22	<19	R	R	R	30mm S	9 R	R	R	R
V	≥15	≤14	R	R	18 S	18 S	18 S	R	R	R
TE	≥22	<19	R	R	18 R	12 R	19 SI	R	R	R
CS	≥22	<22	12 R	12 R	R	R	R	R	R	13 R
OFX	≥22	<22	25 S	24 S	24 S	23 S	23 S	23 S	22 S	22 S
C	≥18	<18	25 S	26 S	23 S	21 S	22 S	15 R	15 R	19 S

Résultats et Discussion

Tableau 8 : Antibiogramme des isolats de SARM nosocomiales.

ATB utilisée pour les souches nosocomiales	souches sensibles		souches Intermédiaires		souches Résistantes	
	N	%	N	%	N	%
	Ampicilline	0	0	0	0%	8
Ticarcilline	2	25%	0	0%	6	75%
Piperacilline	1	12,5%	0	0%	7	87,5
Gentamicine	8	100%	0	0%	0	0%
Amikacine	6	75%	0	0%	2	25%
Pristinamycine	1	12,5%	0	0%	7	87,5 %
Vancomycine	3	37,5%	0	0%	5	62,5%
Tétracyclines	0	00%	1	12,5%	7	87,5%
Colistin sulfate	0	00%	0	0%	8	100%
Ofloxacin	8	100%	0	0%	0	0%
Chloramphenicole	6	75%	0	0%	2	25%

Résultats et Discussion

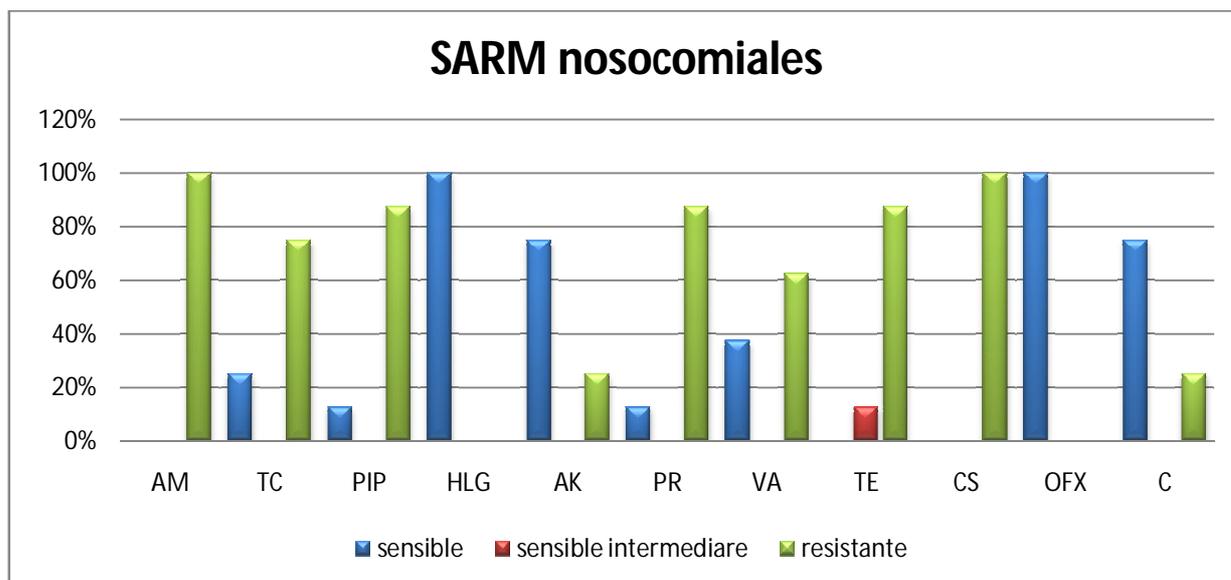


Figure 25 : Taux de résistance et de sensibilité des souches SARM nosocomiales aux antibiotiques.

- **les bêta-lactamines :** les SARM sont **résistants** à l'ampicilline à 100% et piperacilline (87,5%), Ticarcilline (75%)
- **les aminosides :** SARM sont **sensibles** à la gentamicine (100%) et l'amikacine (75%).
- **les macrolides :** les SARM résistants à la pristinamycine (87,5%).
- **les glycopéptides :** la vancomycine ont présenté des pourcentages de résistance de (63%).
- **Les cyclines :** tétracyclines leur résistance de (88%).
- **Les autres ATB :** D'autres résistances vis-à-vis des autres antibiotiques testés : Colistinesulfate (100%). tandis que le chloramphénicol (85,7) et l'ofloxacin (100%) de sensibilité.

Nos souches nosocomiales sont à 100% résistants à la colistine sulfate et l'ampicilline et sont à 100% sensibles à l'ofloxacin et la gentamicine.

Pour les ATB suivants : piperacilline et La pristamycine, le pourcentage de résistance est le même avec (87,5%) et Ticarcilline ont une résistance importante de (75%) et pour la vancomycine et TE ont une résistance de (63%) et (88%) respectivement.

Pour les antibiotiques suivants : AK et C ont une sensibilité de (75%) et (85,7 %) respectivement.

Résultats et Discussion

5.1.2. Les SARM communautaires :

Tableau 9 : Profils de résistance et sensibilité aux antibiotiques des SARM_C.

Les souches			C1	C3	C4	C8	C9	C10	C16
ATB	S	R							
AM	≥29	≤28	R	R	R	R	R	R	R
TC	≥23	≤22	25 S	12 R	13 R	27 S	14 R	13 R	11 R
PIP	≥18	≤17	R	R	15 R	R	16 R	R	13 R
HLG	≥18	<17	32 S	12 R	30 S	28 S	31 S	28 S	9 R
AK	≥18	<18	19 S	11 R	26 S	20 S	16 R	R	13 R
RP	≥22	<19	R	R	30 S	R	30 S	R	29 S
V	≥15	≤14	20 S	19 S	20 S	18 S	19 S	17 S	18 S
TE	≥22	<19	11 R	21 SI	18 R	16 R	16 R	16 R	R
CS	≥22	<22	R	R	R	R	R	R	R
OFX	≥22	<22	20 R	R	25 S	24 S	21 R	21 R	R
C	≥18	<18	29 S	26 S	23 S	20 S	21 S	20 S	8 R

Résultats et Discussion

Tableau 10 :Antibiogramme des isolats de SARM communautaires.

ATB utilisée pour les souchescommunautaires	souches Sensibles		souches intermédiaire		Souches Résistante	
	N	%	N	%	N	%
Ampicillin	0	0%	0	0%	7	100%
Ticarcillin	2	28,57%	0	0%	5	71 ,42%
Piperacillin	0	0%	0	0%	7	100%
Gentamicine	5	71,42%	0	0%	2	28,57%
Amikacine	5	71 ,42%	0	0%	2	28,57%
Pristinamycine	3	42,85%	0	0%	4	57,14%
Vancomycine	7	100%	0	0%	0	0%
Tétracyclines	0	0%	1	14 ,28%	6	85,71%
Colistin sulfate	0	0%	0	0%	7	100%
Ofloxacin	2	28,57%	0	0%	5	71,42%
Chloramphenicol	6	85 ,71%	0	0%	1	14,28%

Résultats et Discussion

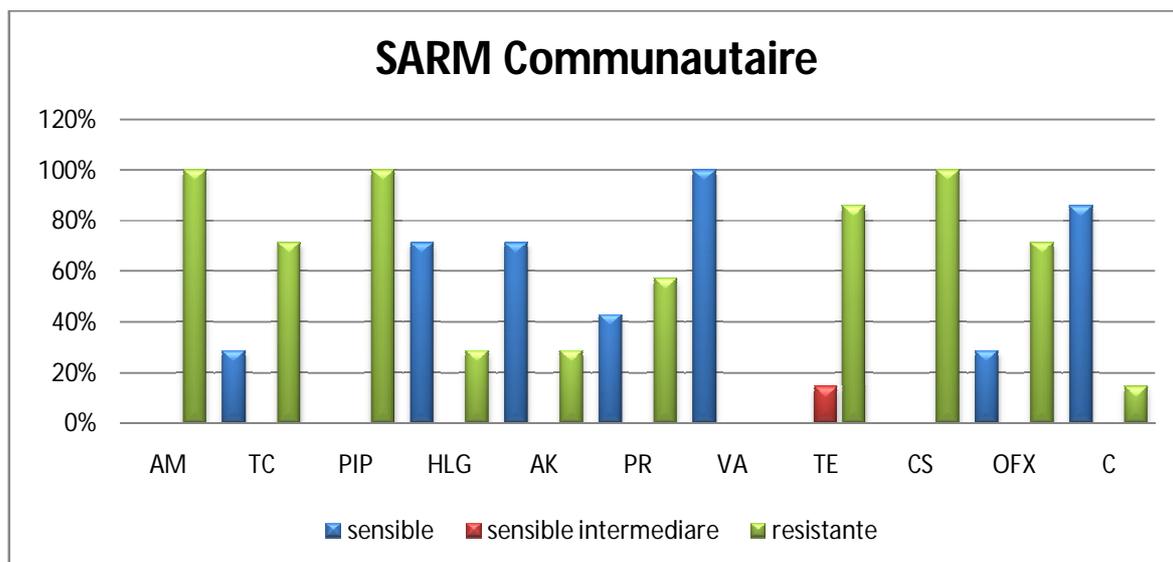


Figure 26: Taux de résistance et de sensibilité des souches SARM communautaires aux antibiotiques.

Pour les SARM communautaires:

- **les bêta-lactamines** : les SARM sont résistants à l'ampicilline et piperacilline (100%), Ticarcilline (71%).
- **les aminosides** : ils sont sensibles à la gentamicine et L'amikacine (71%).
- **les macrolides** : les SARM résistants à la pristinamycine (57%).
- **les glycopéptides** : la vancomycine ont présenté des pourcentages de sensibilité de 100%
- **Les cyclines** : tétracyclines leur résistance (85%).
- **Les autres ATB** : D'autres résistances vis-à-vis des autres antibiotiques testés : ofloxacine (71,4%), Colistine sulfate (100%). tandis que le chloramphénicol (85,7%) de sensibilité.

Nos SARM communautaires sont à (100%) résistants à la colistine sulfate, l'ampicilline et piperacilline et sensibles (100%) à la vancomycine.

Pour la pristinamycine, la résistance est notée de (57%) et (71%) pour la ticarcilline et l'ofloxacine ainsi la TE est (85%) de résistance.

Bien que notre taux de sensibilité pour la gentamicine et l'amikacine soit de (71%) alors que la sensibilité de chloramphénicol est de (85,7%) .

Résultats et Discussion

5.2. Comparaison de l'antibiorésistance entre SARM nosocomiale et SARM communautaire.

Il n'y a pas une différence d'antibiorésistance entre SARM_N et SARM_C, vis-à-vis les ATB suivants :

- l'ampicilline et la colistine sulfate à 100% de résistance.
- Ticarcillin de 71 à 75% de résistance et la tétracycline de 85 à 88% de résistance.
- L'amikacine et Chloramphénicol avec un pourcentage idem de sensibilité.

Par contre on note que :

- La résistance de piperacilline pour SARM_N diminue qui était à 100% de résistance pour les SARM_C et devenu 87,5%.
- Les SARM_N sont sensibles pour la gentamycine et l'ofloxacin par contre les SARM_C ont subi une résistance contre les deux antibiotiques.
- Une résistance importante de la vancomycine à 63% pour les SARM_N tandis que les SARM_C sont sensibles 100%.
- Et enfin, pour la pristnamycine la résistance de SARM_N 87% est plus élevée par rapport aux SARM_C qui est de 57%.

Tableau 11 : Comparaison de l'antibiorésistance entre SARM N et SARM C

Les antibiotiques	SARM _C	SARM _N
AM	R	R
CS	R	R
PIP	R	R (87,5%)
HLG	S (71%)	S
OFX	R(71%)	S
V	S	R 63%
TC	R (71%)	R (75%)
PR	R (57%)	R (87%)
TE	R (85%)	R (88%)
AK	S (71%)	S (75%)
C	S (85%)	S (85%)

Résultats et Discussion

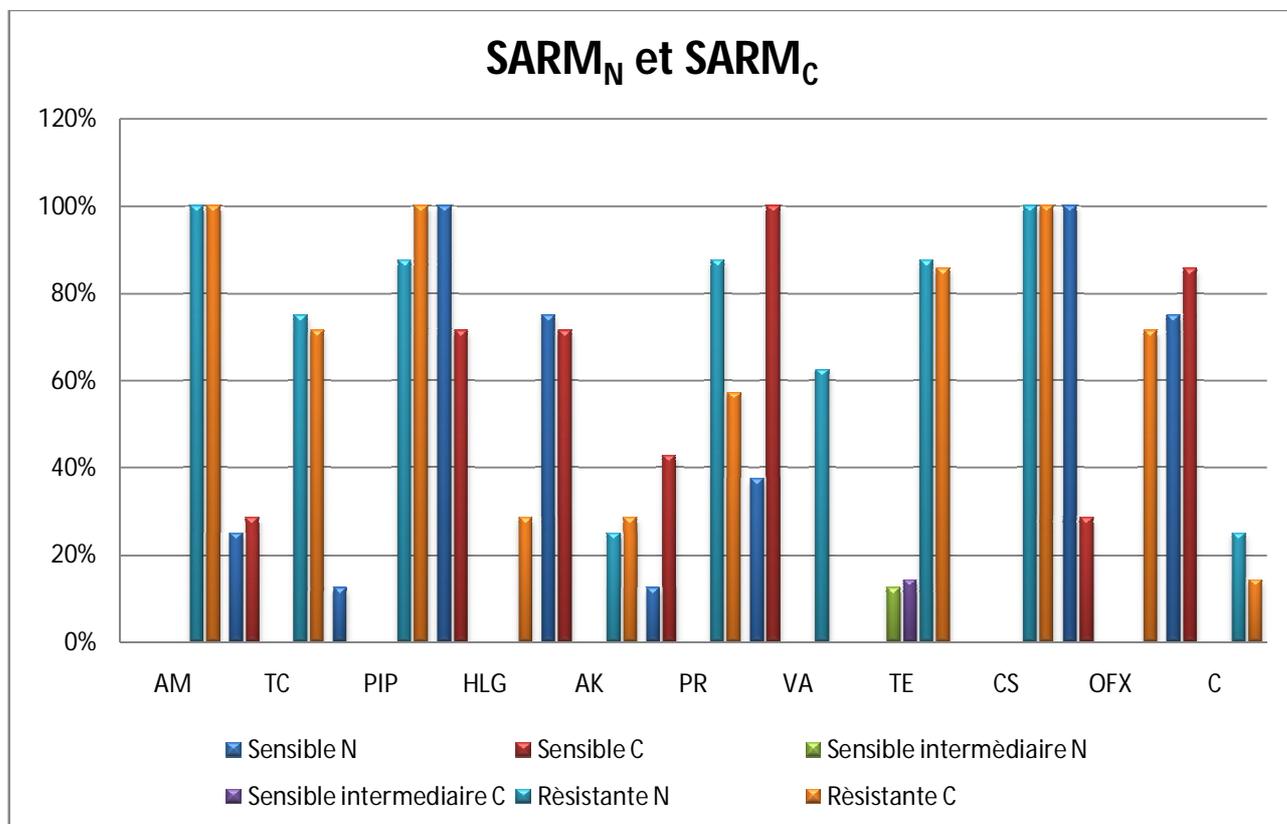


Figure 27 : Taux de résistance et de sensibilité des souches de SARM communautaires et SARM nosocomiales aux antibiotiques .

Résultats et Discussion

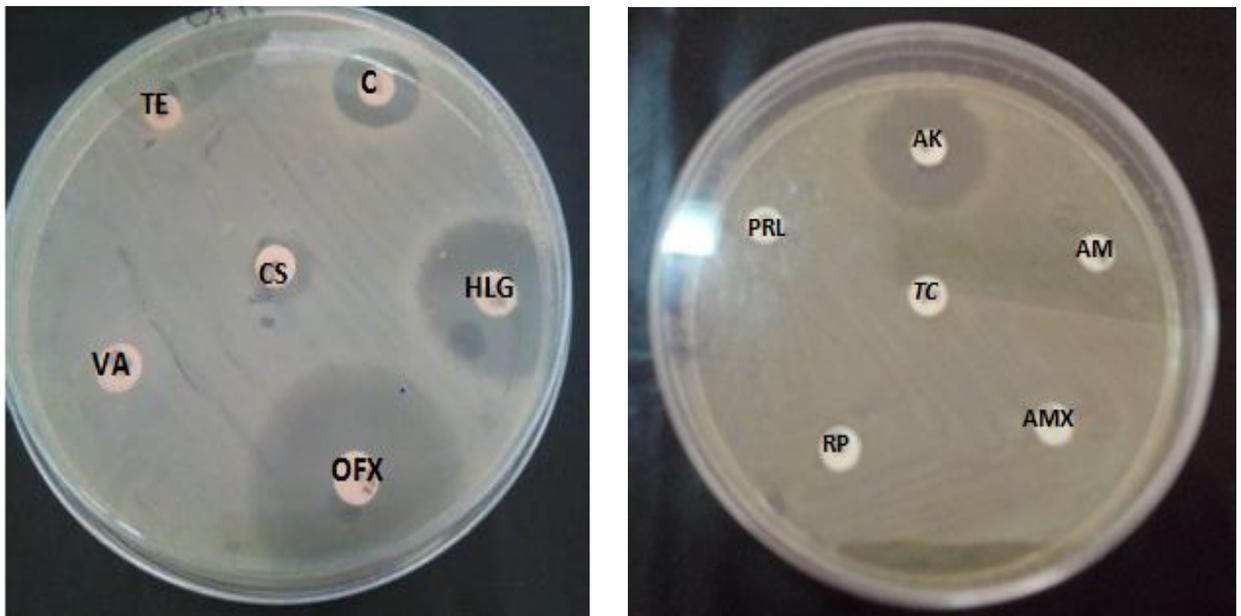


Figure 28: SARM nosocomiales.

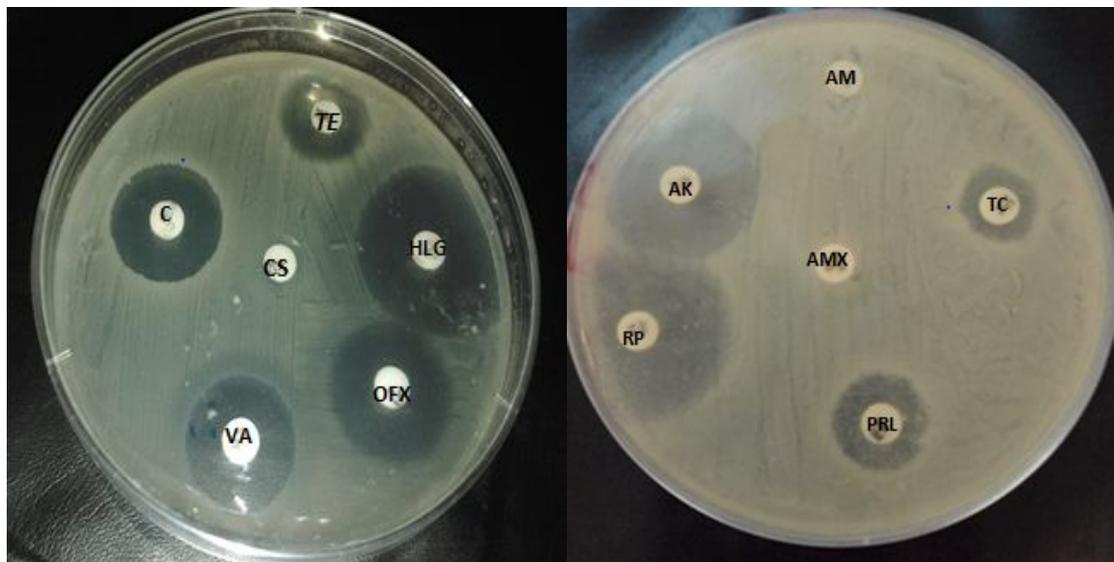


Figure 29: SARM communautaires.

Résultats et Discussion

Discussion générale:

L'apparition de souches multirésistantes en ville pourrait devenir problématique en Algérie au cours des prochaines années. Dans notre étude, seules 4/22(18,18 %) souches de *S. aureus* étaient sensibles à tous les antibiotiques testés, alors que 15/22 (68,18 %) étaient résistantes à au moins à trois d'entre eux. Par rapport à une étude française réalisée en 2000 en dermatologie de ville, le taux de SARM est en faible hausse (5,8 % versus 3,9 %), alors que les pourcentages de souches de *S. aureus* Peni-R/Oxa-S sont parfaitement stables (80,5 %).**P.Bernard.2008.**

Ce taux de SARM relativement important, pourrait être expliqué d'une part, par l'accumulation de plusieurs mécanismes de résistance chez ces souches, due la flexibilité génétique de *S. aureus* qui lui permet l'acquisition de plusieurs modifications et éléments génétiques (**Hiramatsue et al. 2001**). D'autre part, par une pression de sélection générée par une utilisation irrationnelle des antibiotiques.

Dans la présente étude, les SARM ont été isolés essentiellement de pus (66.67%). Comme déjà rapporté par plusieurs auteurs (**Akoua-Koffi et al. 2004 ; Mastouriet al., 2006 ; Benouda et Elhamzoui, 2009 ; Elhemzoui et al., 2009**). Cependant, d'autres investigations ont rapporté une prévalence de SARM beaucoup plus importante au niveau des hémocultures et des urines qu'au niveau des pus (**Thabet et al.2013**).

Les infections par le SARM, qu'elles soient acquise dans la communauté ou dans le milieu hospitalier sont en augmentation dans le monde. On tenant compte de la période séparant entre l'admission et l'apparition de l'infection pour distinguer entre ces deux types de SARM, on a constaté que sur les 15 souches SARM isolées;08 nosocomiales (53,33%) sont dues aux souches de SARM-H et et 07 communautaires (46,67%) sont dues aux SARM-C. Ces résultats semblent corroborer avec d'autres données rapportées par plusieurs auteurs, comme en Algérie, (**Djoudi et al. 2014**).

La vancomycine a une résistance de 63% ce qui prouve que les souches hospitalier ont acquis une autre résistance de vancomycine par rapport aux souches nosocomiales qui sont sensibles.

La diffusion des SARM en milieu hospitalier ou communautaire pose un problème de santé publique, nécessitant la détermination et la compréhension des caractères de résistances aux

Résultats et Discussion

antibiotiques, qui représentent un des buts essentiels de la bactériologie médicale, pouvant faire évoluer les stratégies thérapeutiques (Aouti, 2009).

L'analyse globale de la résistance des SARM aux antibiotiques confirme la multirésistance de ces germes qui sont connues par leur aptitude de résister à plusieurs autres familles d'antibiotiques (Mastouri et al., 2006).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des 15 souches de SARM a montré que la résistance à la méthicilline est souvent associée à la colistine sulfate. Pour les aminosides, le taux de SARM sensible à la gentamicine constaté dans cette étude est de 100 % pour les SARM N.

L'efficacité du chloramphénicol a été remarquable, puisque cette molécule active sur 85,71 % des SARM. Ces données corroborent avec les taux signalés par Mastouri et ces collaborateurs, qui ont signalés un taux de 3%. (Mastouri et al., 2006).

La vancomycine représente toujours l'un des traitements les plus probants face aux infections à SARM, mais cette utilisation systématique a conduit à l'émergence de souches GISA évoquant une crainte de développer un aspect épidémique. Contrairement à nos résultats, Rebiahi et ces collaborateurs ont rapporté 3 souches de SARM résistantes à la vancomycine (1,8%) à Tlemcen (ouest d'Algérie). Cependant, à la Libye, 11 souches résistantes à cet antibiotique (soit un taux de 17,7%) ont été rapporté (Buzaid et al. 2011).

Les résultats de cette étude révèlent que les SARM-H présentent une multirésistance élevée, contrairement aux SARM-C, cela s'explique par le fait que les SARM-H sont des porteurs des gènes de résistance à d'autres familles d'antibiotiques portés par des plasmides et des transposons intégrés dans les cassettes *SCC_{mec}* (David et Daum, 2010).

Le caractère multi résistant des SARM observé dans la présente étude limite le choix des antibiotiques pour le traitement. Dans les hôpitaux, la vancomycine reste l'antibiotique approprié pour le traitement des infections à SARM. Ajoutant l'ofloxicine comme traitement des SARM N dans notre étude, car il a donné une sensibilité à 100%.

Cependant, la sélection des souches résistantes aux glycopeptides est une préoccupation, en particulier avec l'isolement de certaines souches avec une sensibilité réduite à la vancomycine.

Conclusion

Conclusion :

Les micro-organismes multi-résistants aux antibiotiques sont un problème majeur pour la santé publique à l'échelle mondiale.

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) est responsable chez l'homme d'infections nosocomiales et communautaires graves.

Notre étude effectuée sur une collection de 33 prélèvements dont le but est la recherche et l'identification des SARM isolées de divers prélèvements hospitaliers et communautaire afin de faire la comparaison de l'antibiorésistance entre SARM nosocomial et SARM communautaire.

L'identification des souches de *S.aureus* par les méthodes conventionnelles et d'après l'analyse de l'antibiogramme effectués sur les 15 souches de SARM avec un pourcentage de (68,18)%, 8 nosocomiales (24,24%) et 7 communautaire (21,21%).

Les résultats de cette étude révèlent que les SARM-H présentent une multirésistance élevée, contrairement aux SARM-C, dont la vancomycine à 63% de résistance tandis que les SARM C sont sensibles à 100% et pour la pristinaamycine. la résistance de SARM N 87% est plus élevée par rapport aux SARM C qui est de 57%.. . Cela s'explique par le fait que les SARM-H sont des porteurs des gènes de résistance par contre pour la gentamicine et l'ofloxacine ont subi une sensibilité. Le caractère multi résistant des SARM observé dans la présente étude limite le choix des antibiotiques pour le traitement. Dans les hôpitaux, la vancomycine et l'ofloxacine sont comme traitement des SARM N dans notre étude, car il a donné une sensibilité importante.

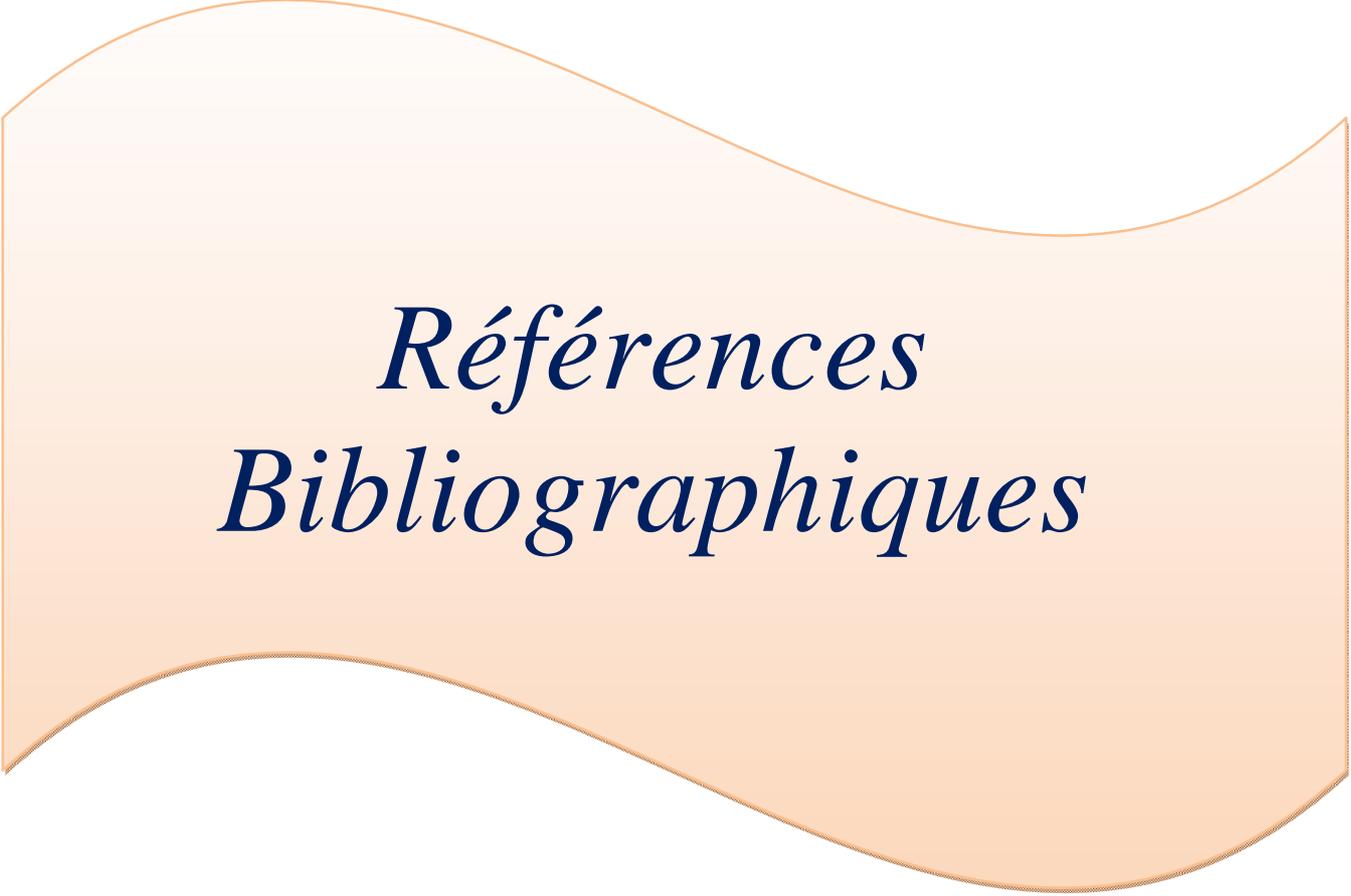
La prévention et le contrôle de la transmission du SARM dans les hôpitaux ainsi la communauté est une activité essentielle pour assurer la qualité et la sécurité des soins.

La prévention de ces infections passe impérativement par le respect de certaines mesures :

- ✓ Une Prise de conscience de l'autorité sanitaire ainsi que le personnel soignant du risque généré par ces résistances.
- ✓ Une utilisation rationnelle des antibiotiques basée sur une lecture interprétative de l'antibiogramme dans des conditions critiques,

conclusion

- ✓ L'instauration d'une politique stratégique et efficace pour l'amélioration des conditions d'hygiène, il s'agit de l'implication de tous les acteurs de la santé : décideurs, médecins, microbiologistes, personnels soignants, hygiénistes, pour assurer une formation et une sensibilisation.
- ✓ Mettre en place un réseau de surveillance d'infections à SARM.
- ✓ Des précautions rigoureuses doivent être entreprises en vue de réduire les risques de transmission de ces bactéries, elles doivent être appliquées à l'ensemble des patients.
- ✓ Le lavage des mains demeure la première ligne de défense. Ce geste doit être aussi efficace que redondant moyennant des solutions hydro-alcooliques avant et après chaque soin sur un même patient. Ce qui pourrait limiter les infections nosocomiales.



*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- 1-**Akoua-Koffi C, Guessennd N, Gbonon V, Faye-Ketté H and Dosso M, (2004).** La méthicillino-résistance de *Staphylococcus aureus* isolés à Abidjan (1998-2001): un nouveau problème en milieu hospitalier Med Mal Infect **34**:132-136.
- 2-**Aouati H,(2009).** Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Thèse de magister. Université Mentouri. Constantine Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie Département De Biochimie et De Microbiologie.
- 3-**Appelbaum PC, (2006).** MRSA the tip of the iceberg. ClinMicrobiol Infect. 12: 3-10.
- 4-**Aubry-Damon, H, Grenet, K, Sall-Ndiaye, P,Che, D, Cordeiro, E, Bougnoux, M.E, Rigaud,E, Le Strat, Y, Lemanissier, V, et Armand-Lefevre, L, (2004).** Antimicrobialresistance in commensal flora of pigfarmers. EmergInfectDis. **10** : 873–879.
- 5- **Avril J.L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H,(2003).** Bactériologie Clinique. 3^{ème} édition. ellipses, Paris. 8-28p.

B

- 1-**Baggett HC, Hennessy TW, Rudolph K, et al.,(2004).** Community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with antibiotic use and the cytotoxin Panton- Valentine leukocidin during a furunculosis outbreak in rural Alaska.J Infect Dis. 189:1565-1573.
- 2-**Baudriller N,(2001)** « Hygiène en médecine générale : commencer par la décontamination ». Rev. Prad. Med. Gen. : 15 (551) : 1833-36
- 3-**Benouda A et Elhamzaoui S ,(2009).** *Staphylococcus aureus* : épidémiologie et prévalence des souches résistantes à la Méthicilline (SARM) au Maroc. Rev Tun Infectiol. 3(1).

Références bibliographiques

- 4-Berger-Bächi B,(1999).** Genetic basis of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *CellMol Life Sci.* **56**:764-770.
- 5-Bernard, P. Jarlier,V.,& Santerre Henriksen, A. (2008).**Sensibilité aux antibiotiques des de *Staphylococcus aureus* responsables d'injections cutanées communautaires.In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol.135,No.1,pp.13-19). Elsevier Masson.
- 6-Berthelot P, Grattard F, Patural H, (2001).** Nosocomial colonization of premature Babieswith*Klebsiellaoxytoca*: probable role of enteral feeding procedure in transmission and control of the outbreak with the use of gloves. *Infect Control HospEpidemio.* **22**:148151.
- 7-Bhakdi S, Fussle R, Trantum-Jensen J,(1981).**Staphylococcal alpha-toxin:oligomerization ofhydrophilic monomers to form amphiphilichexamers induced throughcontact withdeoxycholatedetergent micelles. *ProcNatlAcadSciUSA* ; 78 (9) : 5475-5479.
- 8- Boden, MK, Flock, JL,(1989).** Fibrinogen-binding protein/clumping factor from *Staphylococcus aureus*.*Infect Immun*; 57 (8), p2358-2363.
- 9-Botterel F, Faibis F, Chevalier C, Deliss C, Fiacre A, Dubois A, (2004).** Intérêts et limites de lasurveillance des infections nosocomiales à partir du laboratoire de microbiologie : Expérience du CHG de Meaux. *PatholBiol* ; 52 : 469-473.
- 10-Breche P, Gaillard J, et Simonet M ,(1988).**Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine- Sciences, Paris.267-277p.
- 11-Bronner S, Monteil H, Prévost G, (2004).**Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS MicrobiolRev* .28(2):183-200.
- 12-Buckingham SC, McDougal LK, Cathey LD, et al.,(2004).** Emergence of communityassociated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*at a Memphis, TennesseeChildren’s Hospital. *Pediatr Infect Dis J.* 23:619-624.
- 13-BUYSER,(1996).** Les staphylocoques coagulase-positifs.- In : Lavoisier (Ed), *Techniques d’analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires*, chapitre 6, 305-312.

Références bibliographiques

14-Buzaid et al., (2011).*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline(SARM) dans un hôpital tertiaire de chirurgie et de traumatologie à Benghazi,en Lib Ye.Le journal de l'infection dans les pays en développement 5.10 :723-726.

C

1-CASFM, (2010). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Communiqué.

2-CA-SFM,(2013). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommendations.

3-CA-SFM, (2018).Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Recommendations.

4-C-Clin Sud Est,(2000). Guide d'hygiène et soins ambulatoires. Paris : Édition Frison-Roche, juin, 95 p.

5-Clinical and Laboratory Standards Institute, (2008).Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S18 (ISBN 1- 56238-653-0). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA,

6_Cosgrove S, 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.

7-Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, et al.,(2003).Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a metaanalysis. Clin Infect Dis 36: 53-59.

8- Courvalin P, Leclercq R, Bingen E, (2006). Antibiogramme. Paris: Eska;

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

Références bibliographiques

10-Crossley KB,(2010).*Staphylococci* in human disease. 2nd ed. Chichester, West Sussex ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell;

11-Cox RA, Conquest C, MallaghanC, Marples RR,(1995).A major outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* caused by a new phage-type (EMRSA-16).*J Hosp Infect*;29:87–106.

D

1-David MD, Kearns AM, Gossain S, Ganner M, Holmes A,(2006). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: nosocomial transmission in a neonatal unit. *J Hosp Infect*;64:244–50. doi:10.1016/j.jhin.2006.06.022.

2-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.

3-Dia N.M, Ka R, Dieng C, Diagne R, Dia M.L, Fortes L,(2008). Résultats de l'enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHNU de Fann (Dakar, Sénégal). *Med Mal info* ; 38 :270-274.

E

1-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.

2-Ellenber E,(2005). Analyse terminologique des définitions données à l'infection nosocomiale et proposition d'une définition. *La revue de médecine interne*; 26 : 572–577.

3-EL Kouri D., Pottier M.A., Trewick D., Le Gallou F., Baron D., et Potel G, (1998). Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. *Encycl Méd.*

Références bibliographiques

F

1-**Fasquelle R** ,(1974) .Eléments de bactériologie médicale 9 ème édition. Flammarion,Paris. 27-36p.

2-**Fauchere J.L. et Avril J.L** ,(2002) .Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris.213-217p.

3- **Ferron A**, (1984). Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12ème édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94p.

4-**Freney J**,(2007). Précis de bactériologie clinique. Paris: Éd. Eska,;

5-**Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, Sanza LT, Como-Sabetti K, Jernigan JA etcoll**,(2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities.NEngl J Med;352:1436-44.

G

1-**Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, et al.**, (1988). CDC definitions for nosocomial infections. Am J Infect Control .16:128-140.

2-**GOLDMANN DA, HUSKINS WC**,(1997). Control of nosocomial antimicrobial resistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide. Clin Infect Dis; 24(Suppl 1):S139–45.

3-**Grundmann H, Aires de Sousa M, Boyce J, Tiemersma E**, (2006).Emergence and resurgence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. Lancet. 368: 874–885

H

1-**Hamza R**,(2010). épidémiologie des infections associées aux soins. Revue tunisienne

Références bibliographiques

d'infectiologie ;4 : 1-4.

2-H. Wisplinghoft, T. Bischoft, S.M. Tallent, H.Seifert, R.P. Wenzel, (2004).Nosocomial Bloodstream Infection in US Hospitals: Analysis of 24.179 Cases from a . prospective Nationwide Surveillance Study. Clin Infect Dis ; 39 : 309-18.+6+

3-Hiramatsu K., Cui L., Kuroda M. and Ito T, (2001). The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol. **9**: 486-493.

4-Hisata K., Kuwahara-Arai K., Yamamoto M, (2005). Dissemination of methicillin-resistant *staphylococci* among healthy Japanese children. J Clin Microbiol. **43**:3364-3372.

/

1-Institut de veille sanitaire(InVS)et Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé(ANSM), (2014). Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. Bilan des données de surveillance, 18 novembre 2014. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ;,10 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>.

2-Ito T, Ma XX, Takeuchi F,(2004). Novel type V staphylococcal cassette chromosomemec driven by a novel cassette chromosome recombinaseccrC. Antimicrob Agent Chemother. **48**:2637-2651.

J

1-Jarvis WR(1996). Selected aspects of the socioeconomic impact of nosocomial infections:morbidity, mortality, cost, and prevention. Infect Control Hosp Epidemiol ; 17 : 552-7.

K

Références bibliographiques

1-Kloos W.E. and Bannerman TL (1999). *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray PR., Baron EJ., Tenover FC. et Tenover RH, editors. Manual of Clinical Microbiology. 7th edition Washington. 271-276.

2-Kloos W.E. et Shleifer K.H.,(1975). «Simplified scheme for routine identification of human *Staphylococcus* species». Journal of clinical Microbiology. **1**: 82-88.

3- Katayama Y., Ito T., Hiramatsu K,(2000). A new class of genetic element, *Staphylococcus* cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. **44**: 1549-1555.

L

1-Leclercq R, (2002). Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. Ann Fr Anesth

2-Le Loir Y, Gautier M,(2009). *Staphylococcus aureus*. Paris; Cachan: Éd. Tec & doc ; Éd. médicales internationales.

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

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

5-Lucet JC, Chevret S, Durand-Zaleski I, (2003). Prevalence and risk factors for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to the intensive care unit. Arch Intern Med. **163**:181-188. Réanim. 21: 375-383.

M

1-Mainardi JL(1997). Résistance des staphylocoques aux glycopeptides. Méd Mal Inf ; 27 : 940-2.

2-Mainardi JL, Goldstein FW, Gutmann L,(1996). Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses, 8-006-N-10. : 8 p.

Références bibliographiques

3-Makris G, Wright D.J, Ingham E, et Holland T.K,(2005).The hyaluronatylase of *Staphylococcus aureus*- a virulence factor? Microbiology;; 150:2013.

4-Mastouri M., Nour M., Ben Nejma M., Bouallegue O., Hammani M. and Khedher M, (2006). Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie Path Biol. **54**: 33-36.

O

1-Otter JA and French GL, (2010). Molecular epidemiology of community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Lancet Infect Dis. 10: 227-239.

P

1- Périchon B, Courvalin P,(2009). VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother;53:4580–7. doi:10.1128/AAC.00346-09.

2-Pierre-Yves, D, Anne, G, Anne, Cady,(2010). Actualités du traitement antibiotique des infections à *Staphylococcus aureus*., vo. 16, n° 1, p.63-75.

3-Poole K, (2004). Uninhibited antibiotic target discovery via chemical genetics. Nat Biotechnol. 22(12):1528-1529.

4-Prescott L.M, Harley J.P, Klein D, (2010). Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université.

Q

1-Quincampoix JC and Mainardi JL, (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Réanimation 10:267-275.

Références bibliographiques

R

1-Ruhe JJ, et al.,(2007). Community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections: impact of antimicrobial therapy on outcome. Clin Infect Dis.; 44(6): 777-84. Epub 2007 Feb 1.

2-Rybak MJ, LaPlante KL,(2005).Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a review Pharmacotherapy;25:74-85.

S

1-Sax,Posfay_Barbe K,HarbathS,Francois P ,TouveneauS,Pessoa_SilvaCL,etal(2006).Controlo a cluster ofcommunity-associated,methicillin-resistant*staphylococcus aureus* in neonatology.JHosp infect ;63:63-100.doi:10.1016/j.jhin.2005.11.01.

2-Singer AJ, Talan DA,(2014). Management of skin abscesses in the era of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med.; 370(11): 1039-47. doi:

10.1056/NEJMra1212788. Review

T

1-Tasseau F. Et Baron D,(1989). Infections nosocomiales. In : BRUKER GetFASSIN D, eds. Santé publique. Paris : Ellipses, ; 478-79

2_Tattevin P, (2011). Les infections à *staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline d'acquisition communautaire. Médecine et maladies infectieuses 41167-175.

3-Thabet L, Zoghalmi A, Boukadida J, Ghanem A, Messadi AA,(2013). Etude comparative de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées au service de Réanimation de brûlés durant deux périodes (2005-2008, 2008-2011) et dans deux

Références bibliographiques

structures hospitalières (Hôpital Aziza Othmana, Centre de traumatologie et grands brûlés ben Arous). La Tunisie Medicale.

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

5-Touaitia, (2016). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance Thèse dedoctorat. Université BADJI MOKHTAR- Annaba .Faculté des sciences.Département de biochimie et de microbiologie appliquée.

6- Traore B et Diallo G, (2007). Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie générale du CHU Gabriel TOUR. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en médecine ; Université de Bamako, Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie, Mali, ; N°143.

7-Trouillet S, (2011). Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Mémoire : Minister de l'enseignementsupérieur et de la recherche école pratique des hautes études .102.

W

1-Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, Van Leeuwen W, Van Belkum A, VerbrughHA,etal,(2005).The role of nasal carriage in *S.aureus*infections.Lancet Infect Dis;5:751-62.

2-Wisplinghoff H, RosatoAE, Enright MC, Noto M, CraigW,ArcherGL,(2003).RelatedclonescontainingSCCmec type IV predominate among clinicallysignificant *Staphylococcus epidermidis* isolates. Antimicrob Agents Chemother;47:3574-9.

3-Wolff M,(2002). The management of treatment failures for *staphylococcal* infections.AnnFrAnesthReanim 21: 418-423.

Annexes

Annexe 01 :

Milieux de culture

1/Gélose hypersalée au mannitol – Chapman –

Composition :

Peptone.....	11.0 g
Extrait de viande.....	1.0 g
Chlorure de sodium.....	75.0 g
Mannitol.....	10.0 g
Agar.....	15.0 g

Préparation :

- Mettre en suspension 25 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

2/ Gélose Mueller-Hinton additionnée de 4% Na Cl

Composition :

M H Agar.....	38.0 g
Na Cl.....	40.0 g
Eau distillée.....	1000 ml

Préparation :

- Prêt à l'emploi en flacons de 250 ml.

3/Gélose nutritive(GN) pour la conservation :

Composition :

Peptone	10.0 g
Extrait de viande.....	4.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0
Agar.....	13.0 g

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

4/Bouillon nutritif :

Composition :

Extrait de viande.....	1,0g/l
Extrait de levure.....	2,5g/l
Peptone.....	5,0g/l
Chlorure de sodium.....	5,0g/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 flacons
 - ✓ PH final 7,4.

Annexes

Annexe 02 :

Tableaux 01 : Réactifs et composition chimique

Eau oxygénée(H₂O₂)	_ Solution de peroxyde d'hydrogène a 10 volumes, soit 0,95 mol.dm ³
Fuchsine	_Fuchsine basique.....10g _Phénol.....50g _Ethanol à 0,95.... 100 cm ³ _Eau distillée.....1dm ³
Lugol	_Iode.....1g _Iodure de potassium.....2g _Eau distillée qsp.....1dm ³
Violet de gentiane	_Phénol.....2.0g -Violet de gentiane.....1 .0g -Ethanol à 90° 10ml -Eau distillée.....100ml

Annexes

Annexe 03 :

Tableaux 03: valeur critique des diamètres de zone d'inhibition pour *S.aureus*

Antibiotique testé	Diamètre critique (mm)	
	Résistant	Sensible
<u>Beta lactamine</u>		
Ampicilline	≤28	≥29
Ticarcilline	≤22	≥23
Piperacilline	≤17	≥18
<u>Aminoside</u>		
Gentamicine	<17	≥18
Amikacine	<18	≥18
<u>Macrolide</u>		
Pristinamycine	<19	≥22
<u>Glycopeptide</u>		
Vancomycine	≤14	≥15
<u>Les cyclines</u>		
Tétracycline	<19	≥22
<u>Autre</u>		
Colistin sulfate	<22	≥22
Ofloxacin	<22	≥22
Chloramphénicol	<18	≥18

Annexe 04 :

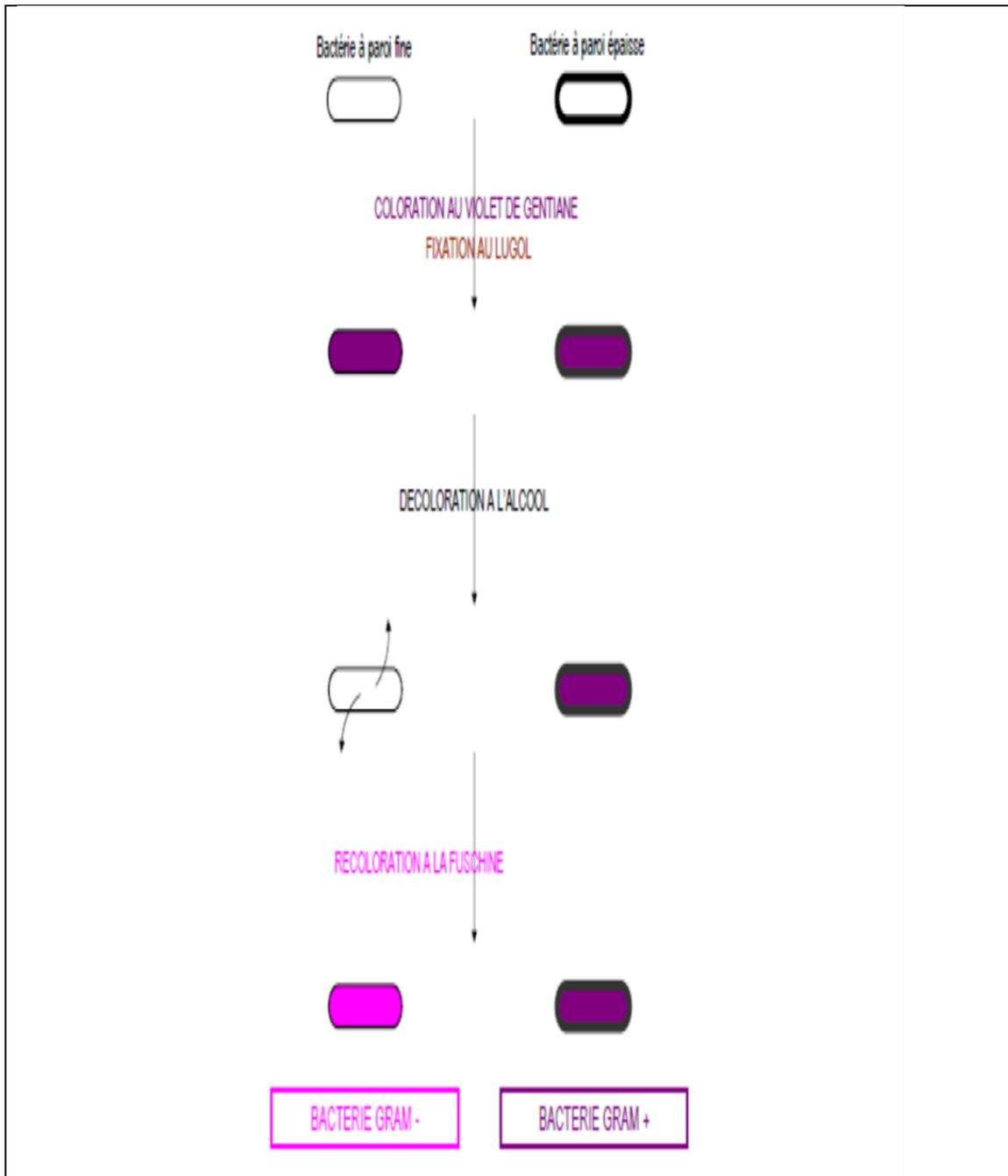


Figure :Coloration de gram

Annexes
