



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

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Microbiologie appliquée à la santé et à l'environnement

Thème:

Etude de profil d'antibiorésistance des
Staphylocoques isolée à partir des prélèvements
cliniques

Présenté par:

BARKA Nadia

MAHBOUB Djihad

Devant le jury:

Dr M. BENHADJ	MCB	Université de Larbi Tébessi	Présidente
Dr S. MAALI	MCB	Université de Larbi Tébessi	Rapporteuse
Dr H. CHADI	MAA	Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de soutenance: 18-06-2019

Année Universitaire: 2018-2019

Dédicaces

A mes chers parents,

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération et l'amour éternel pour les sacrifices que vous avez déployés pour mon instruction et mon bien être dans les meilleures conditions.

Votre générosité et votre bonté ont toujours été exemple pour moi.

Trouvez en ce travail le fruit de votre dévouement et l'expression de ma gratitude et mon profond amour.

A mon frère, mes sœurs et mes proches

A qui je dois ma reconnaissance, je vous remercie vivement pour votre présence et votre soutien.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et a qui je souhaite plus de succès.

A tous ceux que j'aime.

Merci

Remerciement

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre chère encadreur **Dr. SMAALI. S**, Maître Assistant à l'Université de Tébessa qui nous a fourni le sujet de ce mémoire et nous a guidés de ses précieux conseils et suggestions, et la confiance qu'il nous a témoignés tout au long de ce travail.

Nous tenons à gratifier aussi les membres de jury:

Dr. BENHADJ. M, Maître Assistant à l'Université de Tébessa, D'avoir accepté de présider notre jury.

Dr. CHADI.H, Maître Assistant à l'Université de Tébessa, D'avoir accepté d'examiner notre travail.

On adresse aussi nos remerciements à tous les enseignants de la spécialité de la Microbiologie.

Nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes de l'hôpital **BEN OMAR JILANI**, surtout Mme. **HAKIMA** pour toutes les aides qui nous ont fournies.

Nous sommes très reconnaissants car c'était le seul établissement qui nous a aidées dans la réalisation de ce travail.

Enfin, on adresse nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissances à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

من أجل دراسة خصائص مقاومة مضادات الميكروبات للمكورات العنقودية المعزولة من عينات

السريرية في منطقة الوادي, خلال الفترة من 02 جانفي 2017 الى 18 مارس 2019

أجرينا التحاليل الميكروبيولوجية على العينات في مستشفى بن عمر الجيلاني, وقد تم تحديد الجراثيم المعزولة على أساس الصفات المرفولوجية والزراعية ومدى تأثرها بالمضادات الحيوية .

من مجموع 1768 عينة, لوحظ وجود 57 عينة من المكورات العنقودية من إجمالي 469 سلالة معزولة , وقد كان تردد المكورات العنقودية ذات التخثر الايجابي بنسبة 19,77% , و 22,81% من المكورات العنقودية ذات التخثر السلبي .

اظهرت نتائج اختبار المضاد الحيوي أن : الجونتاميسين, فونكوميسين, كلورامفينيكول, امبيسيلين, فوسفوميسين

ايميبينام, اميكسين و سيبروفلوكزاسين هم مضادات حيوية الاكثر نشاطاً على كلا المجموعتين من المكورات العنقودية ذات (التخثر الايجابي, والتخثر السلبي) .

من ناحية اخرى, أصبح مستوى مقاومة هذه السلالات للمضادات الحيوية أعلى بالنسبة لبعضها, وخاصة البنسلين 100%, اموكسيسيلين + حمض كلافلانتيك بنسبة 100%, بريستيناميسين بنسبة 100% في حين لاحظنا أن مستوى مقاومة المكورات العنقودية ذات التخثر السلبي قد ارتفع ليصل لنسبة 92,30% .

الكلمات المفتاحية : اختبار المضادات المضادات الحيوية, الوادي, المكورات العنقودية, مقاومة المضادات الحيوية,

الأوكساسيلين

Abstract

To study the antimicrobial resistance profile of Staphylococcus isolated from clinical specimens in the El-Oued region during the period January 2, 2017 to March 18, 2019.

We carried out our study on different clinical samples at the BEN OMAR JILANI hospital, the identification of isolated germs was done on the basis of morphological and cultural characteristics and their sensitivity to antibiotics .

Of the 1768 samples tested, 57 out of a total of 469 isolated strains were found to contain staphylococci. Coagulase-positive Staphylococci (SCP) had a frequency of 77.19%, and only 22.81% for coagulase-negative Staphylococci (SCN).

The results of the antibiotic susceptibility test showed that Gentamicin, Vancomycin, Chloramphenicol, Ampicillin, Fosfomycin, Imipenem, Amikacin, Ciprofloxacin were the most active antibiotics on the 2 staphylococcal groups (SCN and SCP).

On the other hand, the resistance profile of these strains to antibiotics becomes higher for some of them, notably Penicillin 100%, Amoxicillin + clavulanic acid 100%, Pristinamycin 100%. However, it has been noted that SCNs have developed significant resistance to Oxacillin (92.30%).

Keywords:Antibiogram, El-Oued, Staphylococcus, antibiotic resistance, oxacillin

Résumé

Dans le but d'étudier le profil d'antibiorésistance des Staphylocoque isolés à partir des prélèvements clinique dans la région d'El-Oued, durant la période allant de 2 janvier 2017 au 18 mars 2019.

Nous avons réalisé notre étude sur de différents prélèvements cliniques au niveau de l'hôpital de BEN OMAR JILANI, l'identification de germes isolés a été faites sur la base des caractères morphologique, cultureux et leurs sensibilités aux antibiotiques .

Sur l'ensemble des 1768 échantillons testés, la présence des staphylocoques a été marquée dans 57 prélèvements sur un totale de 469 des souches isolées. Les Staphylocoques à coagulase positif (SCP) ont présenté une fréquence de 77,19%, et seulement 22,81% pour des Staphylocoque à coagulase négatif (SCN).

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que Le Gentamicine, le Vancomycine, Chloramphénicol, Ampicilline, Fosfomycine, Imipenème, Amikacine, Ciprofloxacine ont été les antibiotiques les plus actifs sur les 2 groupes de staphylocoques (SCN et SCP).

En revanche, le profil de résistance de ces souches aux antibiotiques devient plus élevé pour certains entre eux, notamment la Pénicilline de 100%, Amoxicilline +acide clavulanique de 100%, Pristinamycine de 100%. Cependant, on a marqué que les SCN ont développé une résistance importante à l'Oxacilline (92,30 %).

Mots clés: Antibiogramme, El-Oued, Staphylococcus, antibioresistance, oxacilline

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
01	Caractères différentiels des principales espèces de Staphylocoques	05
02	Principales protéines de surface de <i>S.aureus</i>	06
03	Répartition des prélèvements selon le type de microorganisme.	27
04	Distributions des staphylocoques selon type de prélèvement.	28
05	Répartition de différentes espèces de staphylocoques isolées.	29

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
01	Micrographie colorée obtenue au microscope électronique à balayage de la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> SARM au grossissement de (X 20 000)	02
02	Structure et facteurs virulence de <i>S.aureus</i>	07
03	Folliculite et furoncle abcès-cutanée causée par <i>S.doré</i>	13
04	L'organigramme de l'hôpital BEN OMAR JILANI	15
05	Le résultat positif de la galerie et fiche d'identification	19
06	La galerie classique pour faire l'identification de souches	19
07	Mode opératoire d'examen bactériologique de selles	20
08	Deux flacons d'hémoculture d'un patient	22
09	Les étapes de réalisation de l'antibiogramme	27
10	Fréquence des infections à staphylocoques par rapport les infections à non staphylocoques	29
11	Répartition des espèces des staphylocoques selon la nature	30
12	Sensibilité des souches de SCP aux antibiotiques	31
13	Sensibilité des souches de SCN aux antibiotiques	33

Liste des abréviations

- ✚ **SCN:** Staphylocoques coagulase négative
- ✚ **° C:** Degré Celsius
- ✚ **SHT:** Toxines synergo-hyménotropes
- ✚ **LPV:** Leucocidine de Panton-Valentine
- ✚ **SA:** *Staphylococcus aureus*
- ✚ **SARM:** *Staphylococcus aureus* résistance à la méthicilline
- ✚ **PLP2a:** Protéine liant la pénicilline 2 additionnel
- ✚ **SCCmec:** Staphylococcal cassette chromosome mec
- ✚ **MODSA:** Modifié de *Staphylococcus aureus*
- ✚ **MIS:** Macrolides Lincosami des Streptogramines
- ✚ **GN:** Gentamicine
- ✚ **AK:** Amikacine
- ✚ **CIP:** Ciprofloxacine
- ✚ **C:** Chloramphénicol
- ✚ **SXT:** Cotrimoxazole
- ✚ **FO:** Fosfomycine
- ✚ **RA:** Rifampicine
- ✚ **OX:** Oxacilline
- ✚ **OFX:** Ofloxacine
- ✚ **E:** Erythromycine
- ✚ **DA:** Clindamycine
- ✚ **PRM:** Pristinamycine
- ✚ **TE:** Tétracycline
- ✚ **VA:** Vancomycine
- ✚ **FA:** Acide fusidique
- ✚ **LEV:** Lévofloxacine
- ✚ **AM:** Ampicilline
- ✚ **AMC:** Amoxicilline + acide clavulanique
- ✚ **CZ:** Cefazoline
- ✚ **CTX:** Ceforaxime
- ✚ **IMP:** Imipinème
- ✚ **CT:** Colistine

Table des matières

Dédicace	i
Remerciements	ii
ملخص	iii
Abstract	iv
Résumé	v
Liste des tableaux	vi
Liste des figures	vii
Liste des abréviations	viii
Introduction.....	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. GENERALITES SUR LE STAPHYLOCOQUE.....	02
I.1. Taxonomique et classification.....	02
I.1.1 Classification	02
I.1.2. Classification phylogénétique des Staphylocoques.....	03
I.2. Habitat.....	03
I.3. Caractères bactériologique.....	03
I.3.1. Caractères morphologique	03
I.3.2. Caractères cultureux	04
II. Pouvoir pathogène de Staphylocoque.....	06
II.1. Facteurs de virulence et pathogénicité	06
II.2. les maladies (les infections) causées par les Staphylocoques	08
III. L'antibio- résistance de Staphylocoques.....	09
III.1. Le type de résistance.....	09
III.1.1. Résistance naturelle	09
III.1.2. Résistance acquise	09
III.2. Mécanisme de résistance	10
III.2.1. Modification des protéines de liaison à la pénicilline autres que la PLP2a "Résistance à la méthicilline"	10
III.2.2. Mécanisme enzymatique "Résistance à la pénicilline".....	11
III.2.3 Aminosides	11
III.2.4 Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS).....	11
III.2.5. Autres résistances	12
III.3. Risque posé à la santé publique	12

PARTIE EXPERIMENTALE

I. OBJECTIF D'ETUDE	14
II. MATERIEL ET METHODES	14
II. 1. Lieu et période d'étude.....	14
II.1.1. Organisation des services	14
II.1.2. Organigramme	15
II.2. Matériel utilisé	16
II.3. Echantillons et analyses microbiologique.....	17
II.4. Analyses microbiologiques	17
II.4.2. Etude cytobactériologique des urines (UCBU)	17
II.4.2. Examen coprologie des selles	20
II.4.3. Examen bactériologique de sang (Hémoculture)	21
II.4.4. Examen bactériologique du liquide céphalo-rachidien	22
II.4.5. Examen bactériologique de pus d'oreille (otite externe)	25
II.5. Etude d'antibiorésistance des Staphylocoques isolés	26
III. RESULTATS	28
III.1. Aspect épidémiologique	28
III.1.1 Répartition des prélèvements selon le type de microorganisme	28
III.2. Aspect microbiologique	28
III.2.1. Prévalence des infections à Staphylocoques.....	28
III.2.2. Répartition de Staphylocoques selon type de prélèvement	29
III.2.3. Répartition des différentes espèces de Staphylocoques isolées	30
III.3. Profil de résistance des Staphylocoques aux antibiotiques.....	31
III.3.1. Sensibilité <i>Staphylocoques à coagulase positif</i>	31
III.3.2. Sensibilités <i>Staphylocoque à coagulase négatif</i>	33
IV. DISCUSSION	35
IV.1. Aspect épidémiologique.....	35
IV.2. Aspect microbiologique.....	35
IV.3. Sensibilité aux antibiotiques des souches des Staphylocoques	36
IV.3.1. Staphylocoque coagulase positifs " <i>S. aureus</i> ".....	36
IV.3.2. Staphylocoques coagulase négatifs	38
Conclusion	40
Références bibliographiques	41
Annexes	

INTRODUCTION

Introduction

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale et la sécurité alimentaire. Elle est un phénomène naturel mais le mauvais usage de ces médicaments chez l'homme et l'animal accélère le processus. Ce phénomène entraîne une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité (OMS, 2018).

Le Staphylocoque est une bactérie ubiquitaire que l'on retrouve fréquemment sur la peau et dans les narines des personnes. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines. Le traitement de ces infections est devenu de plus en plus difficile à cause de l'émergence de souches multi résistantes, ce phénomène a été observé à l'hôpital mais aussi en ville (Mohammed, N 2005).

L'usage abusif ou excessif des antibiotiques accélère le phénomène de la résistance des microorganismes, de même que de mauvaises pratiques de prévention et de lutte contre l'infection (OMS.2018).

C'est dans ce contexte, que nous avons effectué notre travail dont les objectifs ont été:

- Déterminer la prévalence des infections à staphylocoques
- Identification des espèces de Staphylocoques responsables aux infections
- Etude le profil de résistance des Staphylocoques vis a vis les antibiotiques

Pour ce l nous avons divisée notre mémoire en deux parties:

Une synthèse bibliographique sur : généralité sur le Staphylocoque, pouvoir pathogène de Staphylocoque, et l'antibiorésistance de Staphylocoque.

Suivi par une partie expérimentale qui se divise en : cadre et objectifs de travail, matériels et méthodes, résultats et discussion

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Généralités sur le staphylocoque

Les Staphylocoques ont été découverts dans la plus par Pasteur en 1880. En 1983 OGSTAN a créé le monde "Staphylocoque" pour décrire ces grains (KOKKOS) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (Staphylos) (Figure.1). (Spicer, 2003; Stephen et Hakway, 2006).

En 1884 ROSBACH a obtenu des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies (blanches et dorées) (Karthik, 2007).

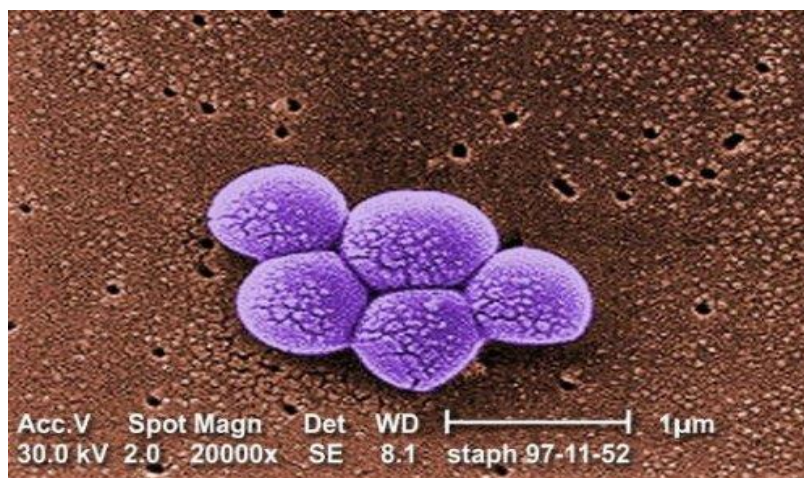


Figure 01: Micrographie colorée obtenue au microscope électronique à balayage de la bactérie *Staphylococcus aureus* SARM au grossissement de (X 20 000) (Inkaet *al.*, 2017).

I.2. Taxonomique et classification

I.2.1. Classification

Selon Bergey (1994), la classification phylogénétique de genre *Staphylococcus* est:

Domaine: *Bacteria*

-Phylum *XIII: Firmicute*

Classe: *Bacilli*

Ordre : *Bacillale*

Famille: *Staphylococcaceae*

Genre: *Staphylococcus*

I.2.2. Classification phylogénétique des Staphylocoques:

Selon la classification de **Garrity et al.(2002)**..:

Domaine: *Bacteria ou Eubacteria*

Phylum XIII: *Firmicutes*

Classe: *Bacilli*

Ordre: *Bacillales*

Famille: *Staphylococcaceae*

Genre: *Staphylococcus* (GC% 30-39 %)

La taxonomie du genre *Staphylococcus* a subi plusieurs remaniements successifs grâce au développement séquençage d'ARNr 16S, on distingue de quarante espèces de *Staphylococcus* dont 24 sous espèces (**Alomar, 2007**).Selon **Garrity et al., (2002)**, Dix-sept espèces de staphylococcus ont été retrouvées chez l'homme ; *S. aureus subspecies aureus*, *S. auricularis*, *S. capitis subspecies scapitis*, *S. caprae*, *S. cohnii subspecies cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis subspecies hominis*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. pasteurii*, *S. saccharolyticus*, *S. saprophyticus subspecies saprophyticus*, *S. schleiferi*, *S. simulans*, *S. xylosus*, *S. warneri*.

I.3. Habitat:

Ces bactéries sont également isolées de l'environnement naturel (sol, eau douce et eau de mer, poussière, air), de l'environnement domestique de l'Homme (cuisine, réfrigérateur), de l'environnement hospitalier et des ateliers de préparation alimentaire ainsi qu'à partir de denrées alimentaires. La peau et les muqueuses de l'homme et des animaux constituant l'habitat de *S. aureus*, la présence de ce micro-organisme dans l'environnement est vraisemblablement due à une contamination par l'homme ou les animaux. (**Fleurette, 1990**).

I.4. caractères bactériologique:

I.4.1. caractères morphologique:

Les Staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) de 0,5-1,5 µm de diamètre, disposées isolément, par paires ou en grappes irrégulières, aérobie-anaérobie facultative à Gram- positif non mobiles (sans mouvement actif), très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeante en culture chimio-organotrophes, métabolisme énergétique oxydatif et fermentatif, principalement catalase- positif et oxydase négative. (**Clotilde., 2015**).

I.4.2. caractères culturels:

La température optimale de croissance et de reproduction 30-37 °C, PH optimal de 7,2 à 7,4 , De nombreuses espèces ont une proportion élevée à prédominante de chaînes d'acides gras ramifiées dans leurs lipides membranaires (**Clotilde., 2015**).

Ils produisent une catalase, le critère de base de leur classification est la production de coagulase. Il ya trois espèces productrices de coagulase: *Staphylococcus aureus*, et *Staphylococcus intermedius*, et *Staphylococcus hyicus*. L'espèce *S.aureus* peut produire de nombreuses enzymes (**Fauchere et Avril, 2002**):

- Protéases, lipases, coagulases, liées au "Clumping-facteurs" ..., coagulases libres, nucléases thermostables ou thermonucléases.

Comme les bactéries lactiques les membres du genre *Staphylococcus* croissent de la façon anaérobie et produisent de l'acide lactique par fermentation des sucres (**Jerome et al., 2004**).

Les bactéries appartenant à ce genre possèdent un métabolisme respiratoire normal. Les genres *Micrococcus* et *Staphylococcus* sont facilement différenciables grâce à leur type respiratoire (**Micheal et al., 2007**).

Ce genre de bactérie fermente sans produire de gaz, de nombreux hydrates de carbone dont le glucose, saccharose, glycérol (**Micheal et al., 2007**). Parmi les espèces retrouvées chez l'homme : *S .aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, leur principaux caractères sont portés sur le tableau 1.

Tableau 1: Caractères différentiels des principales espèces de Staphylocoques (EL Kouri et al., 1998).

Caractère	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Pigment	+	-	-
Coagulase	+	-	-
ADNase	+	-	-
Re.novobiacine	-	-	+
Nitrate réductase	+	+	-
Phosphatase	+	+	-
D. mannitol	+	-	- ou +
Clumping factor	+	-	-
Hémolysine	+	-	-
Protéine A	+	-	-

Re: Résistance, (+): positif, (-): négatif

- ***Staphylococcus aureus:***

L'espèce *S. aureus*, qui produit une coagulase (enzyme capable de coaguler, le plasma de lapin oxalate) est très souvent responsable d'infections pyogènes graves. Isolée des prélèvements où sa présence est physiologique, c'est aussi une espèce saprophyte ou commensale (Fauchere et Avril, 2002).

- ***Staphylococcus epidermidis:***

Cette espèce ne produit pas de Staphylocoagulase ni la plupart des enzymes produites par *S. aureus*, en revanche elle est dotée d'une forte capacité d'adhésion aux biomatériaux, et constamment présente sur la peau et les muqueuses (Fauchere et Avril, 2002).

- ***Staphylococcus saprophyticus:***

Cette espèce a un nom particulièrement mal choisi puisqu'elle peut être responsable d'infection urinaire qui s'observe particulièrement chez les jeunes femmes, habituellement non hospitalisées. Cette espèce adhère à l'épithélium urinaire (Avril et al., 1992).

D'autres espèces sont plus rarement impliquées en pathologie humaine, à savoir: *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. capitis*, *S. saccharolyticus*, *S. auricularia*, *S. simulans* (EL Kourietal., 1998).

II. Pouvoir pathogène de Staphylocoque:

II.1. Facteurs de virulence et pathogénicité :

Les constituants de la paroi des staphylocoques, les substances enzymatiques et toxiques produites, hydrolysant différents constituants cellulaires contribuent à la pathogénie des Staphylocoques (Arvidson, 2000 ; Fauchere, 2002).

➤ Constituants de la paroi:

S. aureus et *S. epidermidis* possède un grand nombre de protéines de surface appelées adhésines, qui ont la capacité de se fixer sur les molécules de l'hôte (ou à des surfaces inertes type cathéters) (Tableau 3). La grande majorité de ces adhésines appartiennent à la famille des MSCRAMM (figure 2) (Patti et al., 1994).

Tableau 2:principales protéines de surface de *S. aureus* (Clarke et Foster, 2006).

Abréviation	Nome complet de la protéine	Ligands
FnBP-A	Protéine de la liaison à la fibronectine-A	Fibronectine Fibrinogène Elastine
FnBP-B	Protéine de la liaison à la fibronectine-B	Fibronectine Elastine
CifA	Protéine de la liaison au fibrinogène-A	Chaîne γ du fibrinogène Fibrine
CifB	Protéine de la liaison au fibrinogène-B	Chaîne α et β du fibrinogène Cytokeratine 10 de type I
Cna	Protéine de liaison au collagène	Collagène
EbpS	Protéine de liaison à l'élastine	Elastine
Spa	Protéine A	Facteur Von Willbrand
Bbp	Protéine de liaison à la sialoprotéine de l'os	Sialoprotéine de l'os
EbhaB	Protéine de liaison à la matrice extracellulaire	Fibronectine

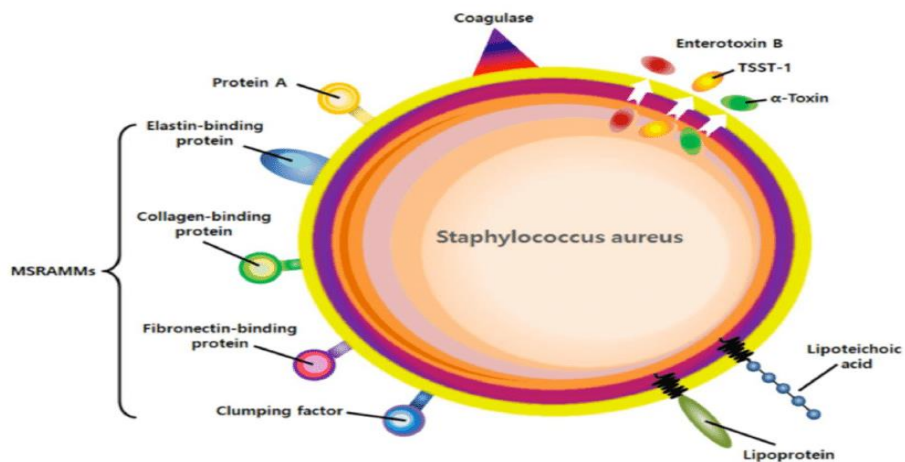


Figure 02: Structure et facteurs virulence de *S. aureus* (Gordon et al., 2008)

➤ **Enzyme:**

Les staphylocoques coagulase négative (SCN) possèdent un potentiel invasif et destructif comme on l'observe dans certains cas d'endocardites sur valves naturelles.

Une propriété remarquable des SCN est d'une part leur forte adhésion aux biomatériaux, ce qui favoriserait leur colonisation, d'autre part l'élaboration d'une substance appelée "slime" qui perturberait les systèmes de défense immunitaire et l'antibiothérapie (Nitenberg et al., 1990).

Ces organismes produisent également toute une gamme d'exoprotéines tels que les protéases, estérases, lipases, nucléases ainsi que des hemolysines dont le pouvoir pathogène peut être anticipé, ces exoprotéines sont impliquées dans la destruction des tissus de l'hôte et dans l'extraction de nutriments (Dinges et al., 2000).

➤ **Toxine:**

Les toxines synergo-hyménotropes (SHT) constituent une famille de toxines protéiques d'individualisation récente, produites par les staphylocoques et comprenant en particulier (Fanny et al., 2008):

- 1- la leucocidine de Pantan-Valentine (LPV),
- 2- la toxine-gamma,
- 3- la leucocidine bovine,
- 4- une leucocidine M et une toxine de *Staphylococcus intermedius*.

Ces toxines agissent toutes par l'action synergique de 2 composés différents sur l'un ou plusieurs des types cellulaires humains suivants : érythrocytes, granulocytes, monocytes et macrophages

La fixation des 2 composés à la surface de ces cellules-cibles est séquentielle (**Gravet et al., 2001**).

- ✓ Chez les granulocytes, elle détermine l'entrée d'ions Ca^{2+} dans ces cellules en présence d'ions Ca^{2+} extracellulaires, la production de médiateurs de l'inflammation par le biais de l'activation de protéines G, une paralysie fonctionnelle secondaire de ces cellules et une lyse cellulaire.
- ✓ Chez les érythrocytes, ces toxines peuvent également provoquer une lyse cellulaire.

Les 2 % d'isolats cliniques de *Staphylococcus aureus* produisant de la LPV sont responsables d'infections cutanées primitives nécrosantes, en particulier de furoncles, vraisemblablement en raison de l'hyperproduction de médiateurs de l'inflammation par les granulocytes. Toutes les souches de *S. aureus* produisent de la toxine-gamma (**Bézar et Plommet, 1973**).

II.2. les maladies (les infections) causées par les Staphylocoques:

Très répandu, le staphylocoque doit sa notoriété à sa faculté à provoquer chez l'être humain des maladies très diverses, de gravité variable : intoxications alimentaires, panaris, septicémie... (**Cardenas, 2014**).

Les maladies causées par les Staphylocoques (**Rebiahi, 2012**);

- Infections de la peau et de tissus mous: Furoncle, Abscès, Infections des plaies (Traumatiques, chirurgicale), cellulites, impétigo (causé par les Streptocoques).
- Bactériémies (souvent avec des abcès métastatiques)
- Endocardites
- Infections de système nerveux central: Abscès de cerveau, Méningite-rare, Abscès-épidural
- Infections pulmonaires: Embolie, Aspiration
- Muscles et squelette: Ostéomyélite, Arthrite
- Tractus génito-urinaire: Abscès rénal, Infections du tractus urinaire inférieur
- Maladies provoquées par des toxines: Syndrome du choc toxique, Intoxications alimentaires (gastro-entérites).

III. L'antibiorésistance de Staphylocoques:

Staphylococcus aureus (SA) et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) occupent une place importante en pathologie nosocomiale (**Bertrand et al., 2002**).

La sensibilité et la résistance des staphylocoques à coagulase négative aux antibiotiques sont souvent comparables, sans être totalement superposables, à celles décrites chez *Staphylococcus aureus*, en particulier, les mécanismes de résistance sont plus variés et pour certaines espèces, les fréquences de résistance aux antibiotiques sont élevées. C'est le cas pour *Staphylococcus epidermidis* et *S. haemolyticus* plus souvent retrouvés à l'origine d'infections nosocomiales (**Pierre et al., 1990**).

III.1. Le type de résistance:

III.1.1 Résistance naturelle:

La résistance naturelle d'une bactérie est une caractéristique propre à une espèce bactérienne, qui est partagée par toutes les souches normales de cette espèce. Elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification.

On parle d'espèces bactériennes naturellement résistantes et de mécanismes de résistance intrinsèques (**Rebiahi, 2012**).

Staphylococcus aureus est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle.

Par la production de pénicillinase (Hutter, 1954) :

-Il a été démontré qu'un facteur, présent dans les filtrats de diverses espèces de *penicillium* produisant de la pénicilline, est capable d'inhiber la destruction de la pénicilline par la pénicillinase.

-Ce facteur n'exerce aucune action sur la pénicilline ni sur les staphylocoques, mais inactive légèrement la pénicillinase elle-même

-Lorsqu'on effectue l'incubation de la pénicilline avec la pénicillinase pendant 24 heures en présence du facteur d'inhibition, on constate une teneur en pénicilline résiduelle proportionnelle à la concentration de l'inhibiteur, et indépendante de la quantité initiale de pénicilline.

III.1.2 Résistance acquise:

La résistance acquise est une caractéristique de certaines souches au sein de l'espèce résulte d'une modification génétique par mutation (résistance chromosomique) ou par acquisition de matériel génétique étranger appelé plasmide (résistance plasmidique) (Rebiahi, 2012).

En dehors des mutations spontanées, l'espèce *S. aureus* a diversifié son génome grâce aux échanges de matériel génétique avec d'autres espèces bactériennes par des phénomènes de transfert horizontal de gènes. Le phénotype de résistance, comme le profil patho génique, semble donc bien être déterminé par les combinaisons de ces éléments génétiques accessoires portés par le chromosome (Oana et al., 2010).

Le temps zéro de l'évolution des SARM est l'acquisition du gène *mecA*, fragment d'ADN de 2,1 kb codant une protéine liant la pénicilline additionnelle (PLP2a). Cette transpeptidase PLP2a a une affinité faible vis-à-vis des β -lactamines. Les souches de *S. aureus* possédant le gène *mecA* sont donc résistantes à toute la famille des β -lactamines, notamment à la méticilline ou à l'oxacilline. Le gène *mecA* est inclus dans un élément génétique mobile: La cassette staphylococcique (SCC*mec*, *staphylococcal cassette chromosome mec*). Cette cassette s'insère au niveau d'un site spécifique du chromosome : le site *attB_{scc}*, situé à l'extrémité 3' d'une séquence à cadre de lecture ouvert désignée sous le nom d'*orfX* dont la fonction demeure inconnue (Rajan, 2004).

III.2. Mécanismes de résistance:

Sur le plan biochimique, 4 grands mécanismes d'action sont mis en jeu lors de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (Schwarz et Chaslus-Danclas, 2001):

- Stratégie dite "d'évitement" par modification de molécule cible de l'antibiotique
- Stratégie dite "offensive" par inactivation enzymatique de l'antibiotique.
- Stratégie dite "de contournement" par shunt des voies métaboliques classiques .
- Stratégie dite "d'expulsion" par diminution de la perméabilité de l'antibiotique et par accélération de mécanisme d'efflux.

III.2.1. Modification de protéines de liaison à la pénicilline autres que la PLP2a "Résistance à la méthicilline"

Ce mécanisme définit les souches de type modifié de *Staphylococcus aureus* (MODSA) présentant une résistance homogène de bas niveau à l'oxacilline (CMI < 16 $\mu\text{g/mL}$) chez des souches non productrices de β -lactamases. (Bemer, 2001).

Le mécanisme impliqué peut résulter de mutations au sein des gènes codant pour les PLP, conduisant à une diminution d'affinité pour les β -lactamines ou à une hyperproduction d'une de ces PLP (**Dural et Leclercq, 2008**).

III.2.2. Mécanisme enzymatique "Résistance à la pénicilline"

Les premières souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline par production d'une pénicillinase ont fait leur apparition (**Mark et al., 2011**), qui hydrolyse le cycle β -lactame de la pénicilline et les rend inactive. Actuellement, plus de 90% des isolats sont résistants à l'action de cet antibiotique. Cette résistance est médiée par le gène *blaZ* (**Lowy, 2003**).

Par la suite, les nouveaux antibiotiques β -lactames tels que la méthicilline, l'oxacilline et des céphalosporines qui étaient résistants à l'action de la pénicillinase, ont été introduits en thérapie. Mais peu de temps après, les premiers isolats résistants à la méthicilline (SARM) ont fait leur apparition (**Mark et al., 2011**).

III.2.3. Aminosides:

Les aminosides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien (**Daurel et Leclercq, 2008**), leur utilisation répond au souhait d'obtenir une synergie bactéricide avec un inhibiteur de la paroi bactérienne (glycopeptide ou bêta-lactamine (**Leclercq, 2002**)).

Le principal mécanisme de résistance aux aminosides est lié à la sécrétion d'enzyme qui dénature ces antibiotiques. On distingue trois phénotypes de résistance (**Quincampoix et Mainardi, 2001 ; Daurel et Leclercq, 2008**);

- une résistance de haut niveau à la kanamycine
- anamycine et l'amikacine (phénotype K)
- une résistance de haut niveau à la kanamycine, à l'amikacine, à la tobramycine (phénotype KT)
- une résistance de haut niveau à la kanamycine, à l'amikacine, à la tobramycine, à la gentamicine (phénotype KTG).

III.2.4. Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS):

Les MLS inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosomes et l'ARN de transfert (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

Les résistances aux MLS comprennent la modification de la cible, des systèmes

d'efflux et des enzymes inactivatrices. Le mode le plus fréquent des résistances aux macrolides et aux lincosamides résulte de la production d'une enzyme (méthylase) d'origine

plasmidique qui modifie la cible ribosomale par méthylation. (Leclercq, 2002). Les gènes codant cette méthylase sont nommés « erm » (Winston et Chambers, 2009).

III.2.5. Autres résistances:

❖ Tétracycline:

Les tétracyclines inhibent la synthèse protéique bactérienne par la fixation réversible à la sous-unité «30S» des ribosomes empêchant l'attachement des Aminocyl-ARNt au site A du ribosome (Lavigne, 2007). Le principal mécanisme de résistance à cette famille qu'a été décrit est l'efflux actif, par les gènes tetK et tetL d'origine plasmidique, (Berche, 1989). Ainsi que la protection de la cible par une protéine codée par le gène transposable tetM (Bismith et Leclercq, 2000).

❖ Acide fusidique:

Inhibe la synthèse protéique en interférant avec une GTPase (facteur d'élongation G EF-G), empêchant la progression de la chaîne polypeptidique au niveau du ribosome. La résistance à cette molécule est secondaire soit à la sélection de mutants résistants au niveau du facteur d'élongation intervenant dans la synthèse protéique soit à une modification de la perméabilité d'origine plasmidique (Bismith et Leclercq, 2000 ; Daurel et Leclercq, 2008).

❖ Rifampicine:

La rifampicine bloque l'initiation de la transcription en inhibant sélectivement la synthèse d'ARNm par la liaison à la transcriptase (Tankovic, 1997). La résistance à cet antibiotique est liée à la sélection de mutants résistants au niveau de la sous-unité β de l'ARN polymérase ADN dépendant (Bismith et Leclercq, 2000).

III.4 Risque posé à la santé publique:

Les Staphylocoques sont des bactéries pathogènes opportunistes qui peut causer diverses maladies chez les humains, allant des affections qui évoluent spontanément vers la guérison à des pathologies mortelles. Cette bactérie est une des principales causes de

toxi-infections alimentaires, résultant de la consommation d'aliments contaminés par des entérotoxines (Michel, 2005).

L'intoxication alimentaire par les staphylocoques se caractérise par une apparition brutale de nausées, de vomissements, de douleurs abdominales, de crampes et de diarrhée. Les symptômes disparaissent habituellement après 24 heures (Michel, 2005).

Les morsures d'animaux peuvent entraîner des infections locales, une cellulite, un érythème, une sensibilité, une fièvre légère, une adénopathie et une lymphangite (rare).

L'érythrodermie bulleuse avec épidermolyse est causée par des toxines exfoliatives sécrétées sur l'épiderme et elle touche surtout les nouveau-nés et les jeunes enfants (Bourgois et al., 1988).

D'autres infections cutanées peuvent être causées par ces toxines exfoliatives (figure 3) phlyctènes, perte cutanée, papules, furoncles, impétigo, folliculite, abcès, pièdre contrôle thermique, perte de liquide et infection secondaire. *S. aureus* peut également causer une fasciite nécrosante chez les sujets immunodéprimés, mais c'est très rare. La fasciite nécrosante est une maladie potentiellement mortelle qui s'accompagne d'une importante morbidité (Michel, 2005).

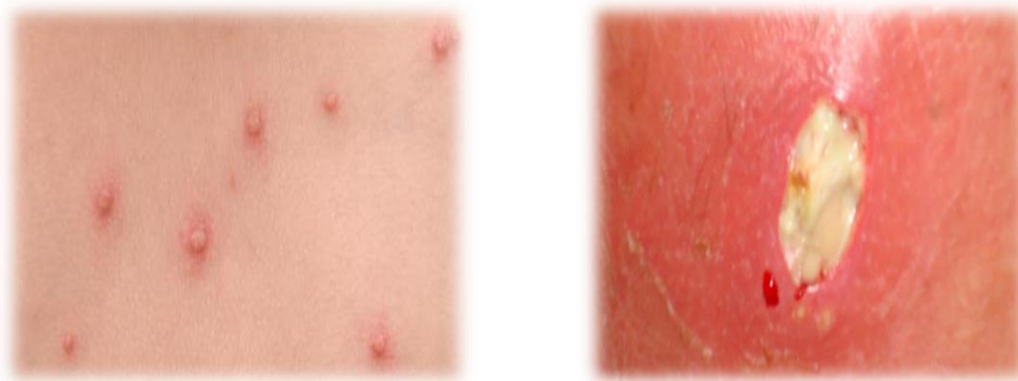


Figure 3: Folliculite et furoncle abcès-cutanée causée par *S. doré (aureus)*
(Richard, 2013)

PARTIE
EXPERIMENTAL

MATERIEL ET METHODES

I. Objectif d'étude

Dans le but d'étudier de profil de résistance des staphylocoques isolés à partir des différents prélèvements cliniques, nous avons fixé les objectifs suivants:

- Déterminer la prévalence des infections à staphylocoques.
- Identification des espèces de staphylocoques responsables à l'infection.

II. Matériel et méthodes

Notre étude est subdivisée en deux:

- Une étude rétrospective concernant les staphylocoques isolés au cours de la période allant du 2 janvier 2017 au 31 décembre 2018.
- Une étude prospective concernant les staphylocoques isolés au cours de la période allant du 18 mars 2019 au 31 mars 2019.

II.1. Lieu d'étude

Le travail a été réalisé au laboratoire d'analyse médicale à l'hôpital de BEN OMAR JILANI, situé au centre ville de la wilaya d'El-Oued. L'hôpital contient 576 travailleurs, 199 lits et 11 services.

II.1.1. Organisation des services

L'hôpital contient plusieurs services importants:

❖ Services hospitaliers

- Département de chirurgie générale: (chirurgie des hommes - chirurgie des femmes) 30 lits.
- Département de médecine interne: (hommes - femmes) 44 lits.
- Urgences Médico-chirurgicale: 35 lits (basés séparément sur l'établissement)
- Orthopédie: 24 lits
- Oto-rhino-laryngologie (O.R.L): contient 8 lits.
- Ophtalmologie: (hommes - femmes) 10 lits
- Psychiatrie: (femmes - hommes) 10 lits
- Infectieux Maladies Infectieuses: (Hommes - Femmes) 16 Lits

- Médecine Légale: (Unité d'anatomie - Unité de détection et d'inspection)
- Réanimation: 7 lits
- Oncologie et chimiothérapie (oncologie): 15 lits (a été transféré à une autre institution)

❖ **Services techniques**

- Laboratoire (Laboratoire centrale): Laboratoire d'analyses de sang - Laboratoire de biochimie - Laboratoire de bactériologie
- Centre d'injection de sang (CTS)
- Néphrologie, Hémodialyse: située en dehors de l'établissement.
- Le Département des Opérations (Bloc Opératoire)
- Centre de radiologie
- Pharmacie centrale.

II.1.2. Organigramme

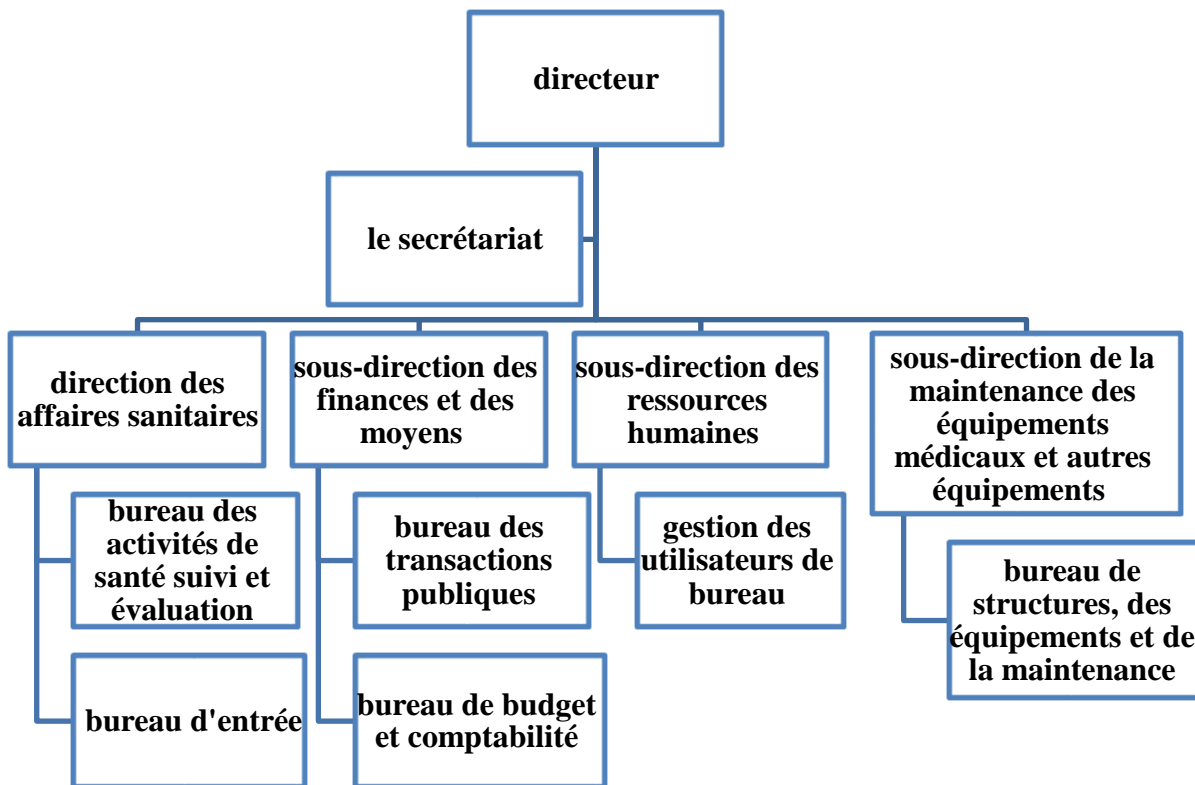


Figure 04: l'organigramme de l'hôpital BEN OMAR JILANI.

II.2. Matériel utilisé

- Bec bunsen.
- Écouvillons.
- Lame et lamelle.
- Boîtes de pétri.
- Cellule de malassez.
- Microscope optique.
- Tubes à essai.
- Anse de platine.
- Pipette pasteur.
- Portoirs.
- Pince.
- Pissette.
- Compresse.
- Seringues.
- Eau de javel.
- Huile d'émersion.
- Huile de paraffine.
- Eau physiologique stérile.
- Alcool.
- Disques d'antibiotiques : GN, AK, CIP, C, SXT, FO, RA, OX, OFX, E, DA, PRM, TE, VA, FA, LEV, AM, AMC, CZ, CTX, IMP, CT.
- Milieu Gélose Nutritif.
- Milieu Hektoen.
- Milieu Sabouraud.
- Milieu Chapman.
- Milieu MAC Conkey.
- Milieu Mueller Hinton.
- Bouillon d'enrichissement.
- Galerie Api 20 E
- Galerie classique

II.3. Échantillons

L'étude a concerné tout type de prélèvement (prélèvement des urines, de sang, des selles, de sécrétions vaginal, de liquide céphalorachidien, de pus et de crachat ...), arrive au laboratoire que se soit des malades externes ou hospitalisés à l'hôpital BEN OMAR JILANI. L'enregistrement de ces prélèvements se fait sur une fiche de renseignement (nom et prénom de malade, leur âge, leur sexe, service, le médecin traitant, l'analyse à faire et résultats).

II.4. Analyses microbiologiques

Pour l'analyse microbiologique, la méthode d'étude des échantillons dépend du type de prélèvement (Annexe 01) comme:

II.4.1. Etude cyto bactériologique des urines (UCBU):

Permet l'isolement et identification des germes responsables des infections urinaires

II.4.1.1. Examen macroscopique :

Après homogénéisation d'urine on note :

Aspect: clair, limpide, trouble

Couleur: acajou, jaune paille

II.4.1.2. Examen microscopique (examen cytologique):

a. Examen direct à l'état frais:

Une goutte d'urine disposée entre lame et cellule Malassez, après en passe à l'observation microscopique (objectif X40), elle a pour but:

- quantitatif: numération des éléments cellulaires.
- qualitatif: description de différents éléments cellulaires (les leucocytes, les hématies, les cellules épithéliales, les cylindres, les cristaux urinaires, les parasites, les levures...)

b. Examen direct après coloration de gram et après coloration par bleu de méthylène: on les utilise rarement mais leur intérêt est la différenciation entre les bactéries gram- et gram+, et aussi leur morphologie.

II.4.1.3. Examen microbiologique:

Uroculture:

Après de bec bunsen, ensemercer à l'aide de l'anse de platine ou la pipette de pasteur stérile ouverte les milieux de culture; GN, gélose Mac Conkey et Sabouraud cas des levures et aussi dans quelques cas en ensemercer le milieu Chapman (gélose sélective des Staphylococcus) par l'urine non diluée, puis en passe au l'incubation de ces milieux à 24-48h /37°C pour les bactéries, et 24h-1 semaine /25°C pour les levures.

II.4.1.4. Identification et antibiogramme:

Après l'observation des boites qui servent à l'isolement des colonies, si il y'a une douteux dans les colonies obtenus (Entérobactérie), on peut être amené à identifier et/ou établir l'antibiogramme, à partir d'une culture pure.

➤ Identification de germe par test de Galerie Api 20:

Microtube contenant le milieu déshydraté, après la préparation de suspension bactérienne, on la introduire dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ouverte (ou seringue), pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles

Pour certains caractères:

- Remplir le tube de suspension puis Recouvrir d'huile de paraffine pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE

-Remplir de suspension le tube et la cupule pour les tests: CIT, VP, GEL

- Après 24h d'incubation à 37°C, cupules dans lesquelles on doit rajouter des réactifs pour la lecture.

-Les résultats positifs de la galerie apparaitre sur forme de code, résultats reportés sur la fiche d'identification, Se référer au catalogue pour identifier la souche à l'aide du code.

Remarque: en l'absence de galerie API 20 E, la galerie classique est utilisée pour faire l'identification.

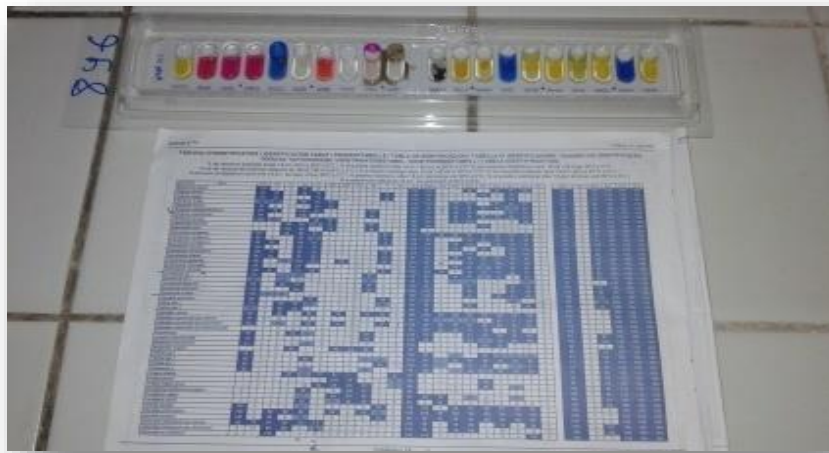


Figure 05: Le résultat positif de la galerie et fiche d'identification (photo personnelle)



Figure 06: La galerie classique pour faire l'identification de souches (photo personnelle)

II.4.2. Examen coprologie des selles

➤ Coproculture

Examen bactériologique des selles qui consiste à y rechercher la présence des bactéries qui cause une infection digestive ou une diarrhée infectieuse.

- mise en culture: l'ensemencement des selles sur des milieux spécifiques (dans ce cas on utilise la gélose Hektoen plus les additifs).

- Préparer une suspension: prélever à l'aide de pipette pasteur environ 1 g de selle et diluer dans un tube à essai contenant l'eau physiologique.
- On prend des gouttes de suspension par une pipette pasteur puis ensemencer sur le milieu gélosé (technique de quadrant).
- Parfois ensemencer un bouillon d'enrichissement pour plus d'efficacité de résultats.
- Tous incuber pendant 24 h à 37 °C.



Figure 07: Mode opératoire d'examen bactériologique de selles. (Photo personnelle)

II.4.3.Examen bactériologique de sang (Hémoculture)

Examen consiste à rechercher la présence de germes dans le sang qui est normalement stérile pour identifier les germes responsable de l'infection et confirmer un diagnostique.

- le prélèvement: la fréquence de prélèvement est élevée car l'ensemencement d'hémoculture nécessite plusieurs ml de sang, le prélèvement se fait par ponction veineuse au niveau d'une veine superficielle en évitant toute contamination par les germes cutanées pour n'est pas gêner l'interprétation plu tard.

- Ensemencer deux types de flacon (un flacon aérobie et l'autre anaérobie).
- Les flacons doivent être rapidement acheminés au laboratoire accompagnés d'une fiche de renseignement complet avec un étiquetage des flacons.
- Incuber dans une étuve à 37 °C.
- Les flacons vont subir un suivi qui comporte un control journalier macroscopique et microscopique:
- Macroscopique pour l'appréciation d'un trouble, production de gaz ou l'apparition des colonies dans les hémocultures.
- Microscopique: chaque jour on doit faire un examen microbiologique d'un état frais et d'une coloration (généralement de gram) pour apprécier les bactéries en l'absence d'un trouble.
- Si l'examen microscopique est positif rend la mise en culture obligatoire pour faire l'identification de la bactérie et aussi un antibiogramme, dans ce cas faire l'ensemencement dans les milieux gélosées riches (GN, hektoen, chapman, sabouraud cas de levure).
- La durée d'incubation d'hémoculture est différente selon le type d'infection (de quelques jours à plusieurs semaines).



Figure 08: Deux flacons d'hémoculture d'un patient (Photo personnelle)

II.4.4. Examen bactériologique du liquide céphalo-rachidien :

Cet examen est utile au diagnostic de maladies infectieuses (notamment la méningite), de cancer, de maladies neurologiques ou d'une inflammation du système nerveux comme le syndrome de Guillain Barré.

❖ Conduite de l'examen:

II.4.4.1. Examen macroscopique:

- ✚ LCR trouble: riche en leucocytes indique la méningite d'origine bactérienne
- ✚ LCR clair en " eau de roche" indiquent la méningite d'origine:
 - Bactérienne: *Mycobacterium* (BK), *Listeria*, *Treponema*, ou méningite bactérienne décapitée par une antibiothérapie.
 - Virale
 - Mycélienne: *Cryptococcus*, *Candida*, *Aspergillus*

II.4.4.2. Examen microscopique:

- ✚ **Cytologie quantitative:** c'est le dénombrement à l'aide d'une cellule Malassez des éléments cellulaires du LCR: le LCR normal contient moins de 2 éléments/mm³.

Le nombre des éléments augmente au cours de méningites "purulentes"

- ✚ **Cytologie qualitative:** celle-ci sera réalisée si le nombre d'éléments est supérieur à 10/mm³, une coloration hématologique pratiquée sur un culot de centrifugation de

LCR. la nature des éléments est analysé: polynucléaire, monocyte, lymphocyte, et leur pourcentage relatif (formule). Une polynucléose oriente vers une méningite purulente bactérienne.

✚ **Bactériologie:** un examen minutieux est réalisé sur un état frais et un culot de centrifugation coloré au bleu et au Gram.

II.4.4.3. Mise en culture:

Elle est réalisée sur milieux gélosés riches (GN, GSC, Chapman "sélective de *Staphylococcus*", Hektoen,) et bouillon enrichissant de façon à couvrir toutes les bactéries rencontrées dans les méningites purulentes. L'isolement sera suivi de l'identification par la galerie classique ou API système (API 20 E, API STAPH) et d'un antibiogramme.

II.4.5. Examen bactériologique de pus d'oreille (otite externe):

L'otite externe peut se manifester sous la forme d'un furoncle localisé ou d'une infection diffuse de tout le conduit auditif (otite externe diffuse aiguë), Ce dernier est habituellement due à des bactéries, telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, ou *Escherichia coli*. L'otite externe fongique (otomycose), généralement provoquée par *Aspergillus niger* ou *Candida albicans*, est moins fréquente. Les furoncles sont habituellement provoqués par *S. aureus* (et par *S. aureus* résistant à la méthicilline au cours des dernières années).

❖ Conduite de l'examen:

II.4.5.1. Aspect macroscopique:

On note la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.

Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.

La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés

Lorsqu'un prélèvement est assez abondant, l'examen macroscopique (odeur, couleur de pus) peut fournir des renseignements intéressants:

L'odeur nauséabonde des pus à anaérobies, l'aspect granuleux, mal lié, des pus à streptocoques, les pus crémeux à Staphylocoques ou à *Pneumocoques* sont des éléments d'orientation dont il faut tenir

II.4.5.2. Examen direct après coloration de gram

Au microscope optique, grossissement X 100.

Coloration de gram: On notera

La présence ou l'absence de bactéries (une ou plusieurs espèce), leur morphologie, leur position intra ou extra cellulaire, en cas de pus polymicrobien, l'espèce dominante, et leur abondance.

Observation de cocci à Gram positif en chaînettes (ex : *Streptococcus*)

II.4.5.3. Examen direct a l'état frais:

Une goutte du prélèvement est déposée sur lame porte-objets. On ajoute une lamelle puis on observe au microscope optique, au grossissement X40.

Cet examen permet de:

- Distinguer les cellules d'accompagnement : soit des PN ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative)
- Constater l'état des cellules (intactes ou altérées)
- Observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.

L'examen cytologique consiste à apprécier le degré d'altération et le nombre des polynucléaires neutrophiles et, éventuellement, la présence d'autres cellules.

II.4.5.4. Culture : C'est l'élément clé de diagnostic

Des isollements sur différents milieux sont réalisés en tenant compte de la fiche de renseignements cliniques et des examens macro et microscopiques sur:

Gélose au Sang Cuit incubée sous CO₂, gélose Chapman, gélose Hecktoen, autres types de milieu si le clinicien oriente vers certains types particuliers de germes. L'identification est ensuite effectuée sur les différents types de germes isolés et purifiés.

Méthode d'ensemencement:

On dépose une goutte de pus sur la surface de la gélose àensemencer avec une pipette fermée, on effectue un épuisement en stries ou bien on frotte l'embout de l'écouvillon (qui peut-être imbibé avec un bouillon nutritif) sur une partie de la surface de cette gélose.

II.4.6. Examen bactériologique de pus d'oreille (otite externe):

L'otite externe peut se manifester sous la forme d'un furoncle localisé ou d'une infection diffuse de tout le conduit auditif (otite externe diffuse aiguë), Ce dernier est habituellement due à des bactéries, telles que *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, ou *Escherichia coli*. L'otite externe fongique (otomycose), généralement provoquée par *Aspergillus niger* ou *Candida albicans*, est moins fréquente. Les furoncles sont habituellement provoqués par *S. aureus* (et par *S. aureus* résistant à la méthicilline au cours des dernières années).

❖ Conduite de l'examen:

II.4.6.1. Aspect macroscopique:

On note la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.

Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.

La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtres ou bleutés

Lorsqu'un prélèvement est assez abondant, l'examen macroscopique (odeur, couleur de pus) peut fournir des renseignements intéressants:

L'odeur nauséabonde des pus à anaérobies, l'aspect granuleux, mal lié, des pus à streptocoques, les pus crémeux à Staphylocoques ou à *Pneumocoques* sont des éléments d'orientation dont il faut tenir

II.4.6.2. Examen direct après coloration de gram

Au microscope optique, grossissement X 100.

Coloration de gram: On notera

La présence ou l'absence de bactéries (une ou plusieurs espèce), leur morphologie, leur position intra ou extra cellulaire, en cas de pus polymicrobien, l'espèce dominante, et leur abondance.

Observation de cocci à Gram positif en chaînettes (ex : Streptococcus)

II.4.6.3. Examen direct a l'état frais:

Une goutte du prélèvement est déposée sur lame porte-objets. On ajoute une lamelle puis on observe au microscope optique, au grossissement X40.

Cet examen permet de:

- Distinguer les cellules d'accompagnement : soit des PN ou des lymphocytes (étude qualitative et quantitative)
- Constater l'état des cellules (intactes ou altérées)
- Observer la morphologie et la mobilité des bactéries éventuelles.

L'examen cytologique consiste à apprécier le degré d'altération et le nombre des polynucléaires neutrophiles et, éventuellement, la présence d'autres cellules.

II.4.6.4. Culture : C'est l'élément clé de diagnostic

Des isolements sur différents milieux sont réalisés en tenant compte de la fiche de renseignements cliniques et des examens macro et microscopiques sur:

Gélose au Sang Cuit incubée sous CO₂, gélose Chapman, gélose Hecktoen, autres types de milieu si le clinicien oriente vers certains types particuliers de germes. L'identification est ensuite effectuée sur les différents types de germes isolés et purifiés.

Méthode d'ensemencement:

On dépose une goutte de pus sur la surface de la gélose à ensemer avec une pipette fermée, on effectue un épuisement en stries ou bien on frotte l'embout de l'écouvillon (qui peut-être imbibé avec un bouillon nutritif) sur une partie de la surface de cette gélose.

II.5. Étude de l'antibio résistance des staphylocoques isolés

La sensibilité de toutes les souches bactériennes aux antibiotiques a été testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Muller Hinton (MH). À partir d'un isolement sur la gélose, une suspension est réalisée de 3 à 5 colonies mélangées avec 5 ml de l'eau physiologie, puis ensemencées sur gélose MH. Les disques

d'antibiotiques sont posés sur les boîtes en appuyant légèrement pour assurer le contact avec le milieu. La boîte est mise à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C.

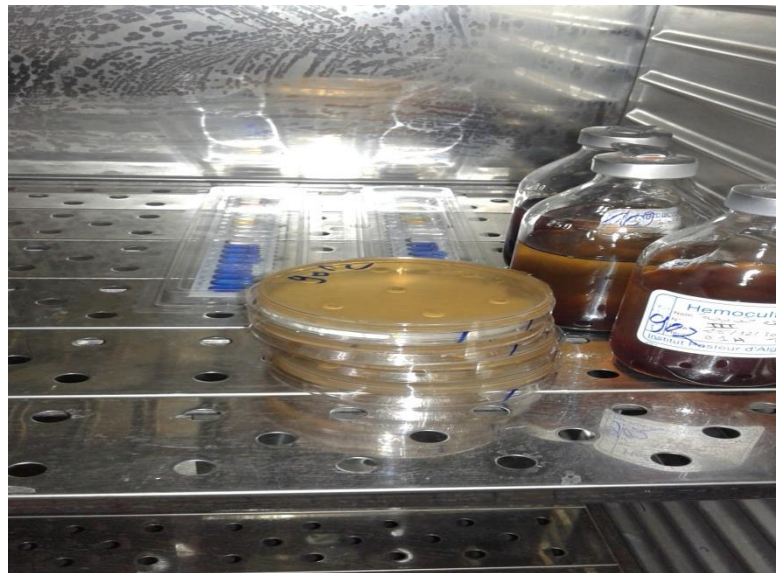


Figure 09: Les étapes de réalisation de l'antibiogramme (photos personnelle)

RESULTATS

III. Résultats

III.1. Aspect épidémiologique

III.1.1. Répartition des prélèvements selon le type de microorganisme

Du 2 janvier 2017 au 18 mars 2019, 1768 échantillons de différents types ont été recueillis et analysés à l'hôpital BEN OMAR JILANI (tableau 03);

Tableau 03: Répartition des prélèvements selon le type de microorganisme

Type de prélèvement	Prélèvement (-)	Prélèvement (+)			
		Bactérie		Levure	
		Nombre	%	Nombre	%
ECBU	1024	253	63,89%	67	91,78%
LCR	75	4	1,01%	-	0%
PV	4	3	0,76%	2	2,74%
Selles	16	1	0,25%	-	0%
Liquide pleural	71	5	1,26%	1	1,37%
Pus	19	110	27,78%	1	1,37%
Hémoculture	66	13	3,28%	-	0%
Ponction d'ascite	23	6	1,52%	1	1,37%
Crachat	-	1	0,25%	1	1,37%
Totale	1298	396	100%	73	100%

D'après ces résultats, il paraît que sur un total de 1768 échantillons, la prévalence des infections bactériennes a été de 30,51 %. Par contre, la prévalence des infections à levures de a été 5,62 %.

III.2. Aspect microbiologique

III. 2. 1. Prévalence des infections à staphylocoques

Les résultats d'analyses bactériologiques ont montré la présence des Staphylocoques dans 57 prélèvements sur un totale de 469 souches isolées, soit une fréquence de 12,15%. (Figure 10)

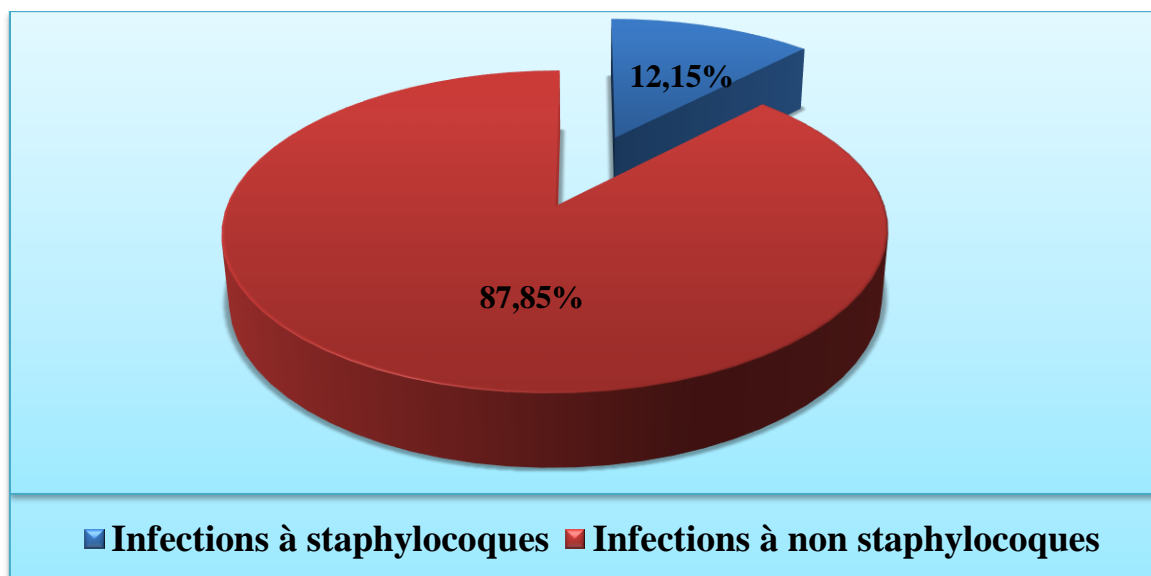


Figure 10: Fréquence des infections à Staphylocoques par rapport aux infections à non Staphylocoques.

III.2.2. Répartition de Staphylocoques selon type de prélèvement

Les résultats relatifs aux distributions de Staphylocoques selon type de prélèvement sont présentés dans le tableau 04

Tableau 04: Distributions des Staphylocoques selon le type de prélèvement.

Type de prélèvement	Nombre	Pourcentage
ECBU	22	38,60%
Ponction d'ascite	1	1,75%
Hémoculture	3	5,26%
Liquide pleural	1	1,75%
Pus	30	52,63%
Totale	57	100%

Le tableau 04 a montré que la plus grande partie des Staphylocoques ont été isolées à partir du pus avec une fréquence de 52,63% suivi par l'ECBU (38,60%), l'hémoculture (5,26%), les ponctions d'ascite (1,75%) et le liquide pleural avec (1,75%).

III.2.3. Répartition des différentes espèces de Staphylocoques isolées

Les résultats relatifs aux distributions des Staphylocoques isolées selon l'espèce sont présentés dans le tableau 05 et le figure 07 suivant;

Tableau 05: Répartition de différentes espèces de Staphylocoques isolées.

Familles		Espèce	Nombre	Pourcentage %
<i>Staphylococcaceae</i> (12,15%)	SCP	<i>S. aureus</i>	44	77,19%
	SCN	<i>S. epidermidis</i>	2	3,51%
		<i>Staphylococcus sp</i>	11	19,30%
Totale			57	100 %

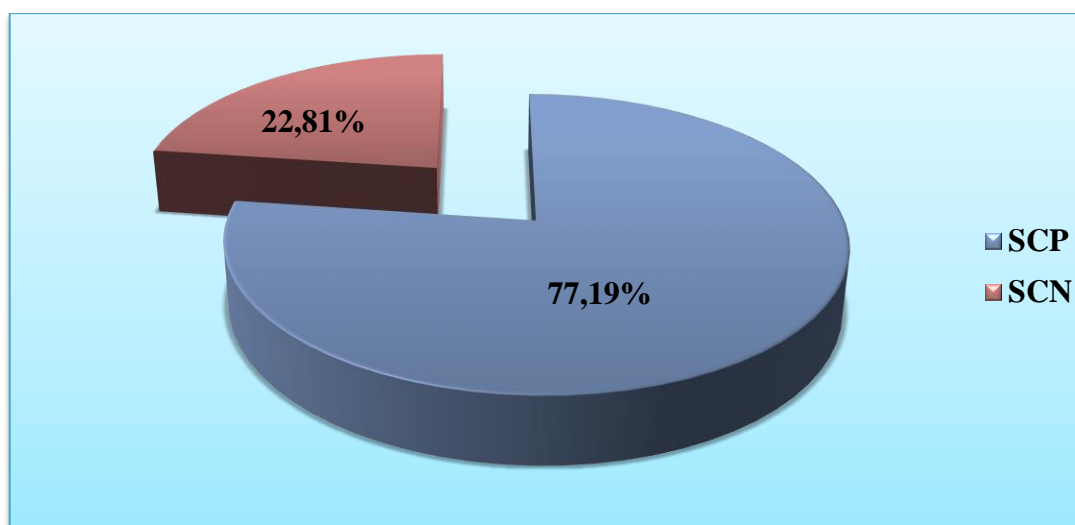


Figure 11: Répartition des espèces des Staphylocoques selon la nature.

Les Staphylocoques isolés ont été présentés principalement par les Staphylocoques à coagulase positif (SCP) (*S. aureus*) avec 77,19%, soit 44 isolats. Par ailleurs, les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) ont été isolées dans 22,81% (13 isolats), elles ont été présentées par les *Staphylococcus epidermidis* 0,42% (2 isolats) et les *Staphylococcus spp* avec 19,30% (11 isolats). (Tableau 05 et Figure 11)

III.3. Profil de résistance des Staphylocoques aux antibiotiques

III.3.1. Sensibilité de *Staphylocoques à coagulase positif*

Les résultats de la sensibilité des souches de SCP aux antibiotiques sont présentés dans le figure suivant;

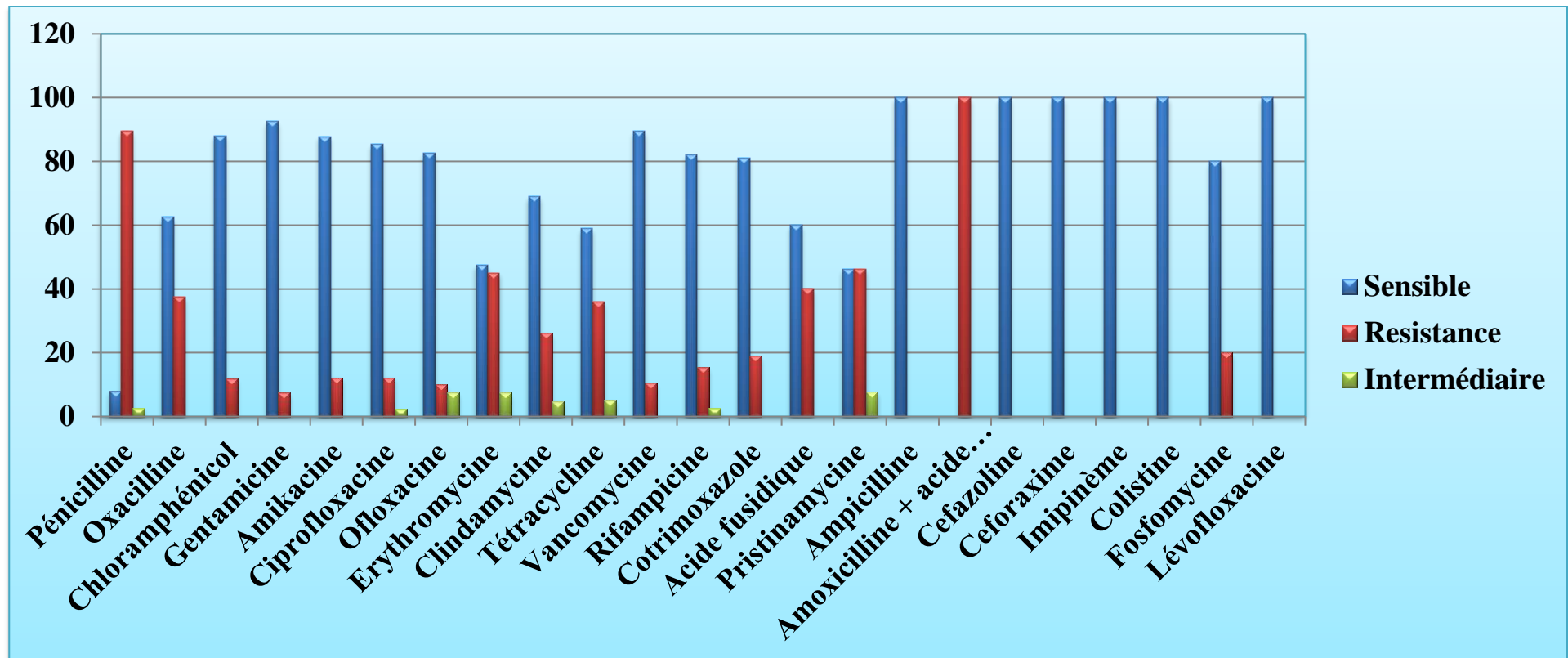


Figure 12: sensibilité des souches de SCP aux antibiotiques.

Selon les résultats du Figure 12, les de SCP ont été sensibles aux divers antibiotiques: Gentamicine 92,50%, Chloraamphénicol 88,10%, Vancomycine 89,47%, Amikacine 87,80, Ciprofloxacine 85,37%, Ofloxacine 82,50%, Rifampicine 82,05%, Cotrimoxazole 80,95%, Clindamycines 69.05%, Oxacilline 62,50%, Acide fusidique 60%, Tétracycline 58,97%, Erythromycine 47,50%, Lévofloxacine 100%, Fosfomycine 80%, Imipinème 100%, Ampicilline, Cefazoline, Ceforaxime et Colistine 100% pour chacune. Par contre, elles ont montré une résistance assez importante avec Pénicilline 89,47%, Pristinamycine 46,15% et Amoxicilline + acide clavulanique 100%.

III.3.2. Sensibilité de *Staphylocoques à coagulase négatif*

Les résultats de la sensibilité des souches de SCN aux antibiotiques sont présentés dans la figure suivant;

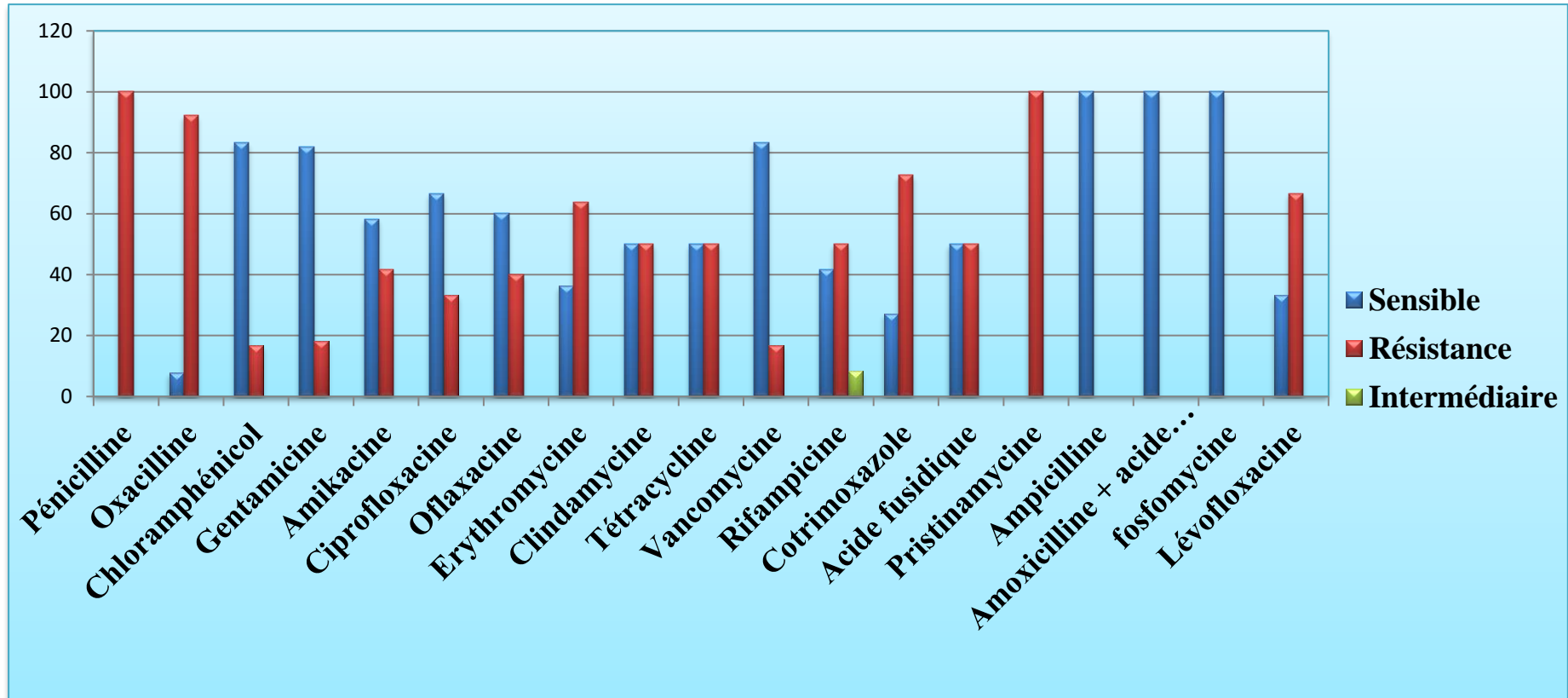



Figure 13: sensibilité des souches de SCN aux antibiotiques.



Le Figure 13 montre que les majorités des souches de Staphylocoque à coagulase négative isolés sont sensibles aux: Chloramphénico 83,33% et vancomycine 83,33%, Gentamycine 81,82%, Cotrimoxazole 72,73%, Ciprofloxacine 66,67%, Ofloxacine 60%, Fosfomycine 100% , Ampicilline 100%, Amoxicilline + acide clavulanique 100%.

En revanche, elles ont montré une résistance importante vis-à-vis la Pénicilline 100%, Oxacilline 92,30%, Erythromycine 63,64%, Clindamycine 50%, Tétracycline et Acide fusidique 50%, Amikacine 58.33%, Rifampicine 50%, Pristinamycine 100% et Lévofloxacine 66,67%.

DISCUSSION

IV. Discussion

IV.1. Aspect épidémiologique

La connaissance et la surveillance du profil d'antibio résistance des souches des staphylocoques sont primordiales dans la prise en charge des infections causées par ce type de bactéries, ainsi que la maîtrise de leur diffusion clonale (**El-anzi, 2014**)

Sur l'ensemble de 469 échantillons positifs, la prévalence des infections à Staphylocoques a été 12,15%. Ces souches ont été isolées principalement à partir de prélèvement de pus et d'urine.

En 2015, Alioua a apporté une prévalence de 26,4 pour les infections à Staphylocoques, dont 45,1% des souches ont été isolés à partir de pus, 26,1% dans l'urine et 13,4% ont été isolés dans l'hémoculture.

De son part, **Idri et Ait bouda (2016)** ont trouvé que 81% des isolats de Staphylocoques ont été isolées à partir pus et sérosité, et seulement 13% ont été isolées par hémoculture.

Les Staphylocoques sont défini comme des commensal humain normal ayant le potentiel de provoquer des infections opportunistes. La niche écologique primaire de ces espèces étant les fosses nasales antérieures (**Le Loir et Gautier, 2009**).

IV.2. Aspect microbiologique

Les résultats bactériologiques de notre étude placent les SCP présenté par l'espèce *S. aureus* en tête des germes responsables des infections à Staphylocoques. Les autres espèces isolées ont été regroupées sous le terme de Staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Nos résultats ont été proches à celui de **Rebiahi (2012)**, qui a trouvé que 61% des Staphylocoques ont été *S. aureus* et 39% ont été SCN.

D'autre part, nos résultats ont été supérieurs à ceux **d'Alioua (2015)**, qui a rapporté que les SCN ont constitué 66,34% des souches des Staphylocoques isolés et 33,66% pour les SCP. De son part, **Afissa (2014)** a trouvé une dominance prémordiale des Staphylocoques à coagulase négatifs (SCN) avec 65% par apport aux SCP 35%.

La pathogénie des infections à Staphylocoque à coagulase négative, bien qu'encore mal connue, diffère sensiblement de celui des infections à *S. aureus*.

Ce pendant, les infections *S. epidermidis* sont caractérisées par deux éléments: elles sont souvent associées à un corps étranger, et s'évoluent sur un mode indolent subaiguë. *S. epidermidis* produit en effet beaucoup moins d'enzymes et de toxines que *S. aureus* (**Von Eiff et al., 2002**).

Les capacités d'adhésion des Staphylocoques aux cellules humaines, aux matrices extracellulaires et aux corps étrangers sont des facteurs essentiels des processus de colonisation et d'infection, aboutissant à la formation de ces communautés structurées de cellules bactériennes entourées d'une matrice polymérique autoproduite et adhérant à une surface inerte ou vivante, que sont les biofilms (**Costerton et al., 1999**).

IV.3. Sensibilité aux antibiotiques des souches des staphylocoques

IV.3.1. *Staphylocoques à coagulase positif "S. aureus"*

Dans la présente étude, on a trouvé que les *S. aureus* ont été sensibles principalement aux: Gentamicine, Chloramphénicol, Vancomycine, Amikacine, Ciprofloxacine, Ofloxacine, Rifampicine, Cotrimoxazole, Clindamycines, Oxacilline, Acide fusidique, Tétracycline, Erythromycine, Lévofloxacine, Fosfomycine, Imipinème, Ampicilline, Cefazoline, Ceforaxime et Colistine. Par contre, elles ont montré une résistance assez importante avec Pénicilline, Pristinamycine et Amoxicilline + acide clavulanique.

En Mali, Tchougoune (2007) a montré que les *S. aureus* ont marqué une résistance à la Pénicilline (85%), et une sensibilité à la Gentamicine (71,5%), Amikacine (80%), Chloramphénicol (70%), Ciprofloxacine (66%) et Fosfomycine (91%).

De son part, Boukaa (2013) a trouvé que 65,5% des *S. aureus* isolés n'ont aucune résistance à la Gentamicine, Vancomycine et Fosfomycine. Ce pendant, elles ont été résistantes à la Pénicilline.

En France, selon Leclercq (2002) seulement 12,12% des souches de Staphylocoques ont été résistantes à la clindamycine. En effet, cette molécule est dotée de propriétés anti Staphylococciques intéressantes, notamment ses capacités de diffusion tissulaire, ou son absence d'induction de la production d'une méthylase. Néanmoins son utilisation est

déconseillée en raison d'un risque élevé de sélection de mutants constitutifs (**Leclercq, 2002**).

En Algérie, **Rebiahi (2012)** a noté leurs résistances à la Pénicilline et l'Amoxicilline. Par ailleurs, la Fosfomycine et la Rifampicine ont été pondéralement plus actives exprimant des taux des sensibilités dépassant les 90%.

Actuellement 90 % des Staphylocoques sont résistants à la pénicilline G (Chernaout-benchou, 2013). Le mécanisme de résistance à la pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée β -lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines et les rend inactives (**Chernaout-benchouk, 2013**).

Selon Daurel et Leclercq (2008) la production de β -lactamase par le test iodométrique a été retrouvée chez 93% des souches testées, ce qui pourrait expliquer la résistance à certaines β -lactamines comme la pénicilline ou l'amoxicilline.

Les mécanismes de résistance de *S. aureus* aux antibiotiques comprennent une inactivation enzymatique de la modification antibiotique (pénicillinase et enzymes aminoglycosides de modification), de la cible avec une affinité réduite pour l'antibiotique (exemples notables étant la protéine 2a liant la pénicilline PLP2a), le piégeage de l'antibiotique (pour la vancomycine et éventuellement daptomycin) et les pompes à efflux (fluoroquinolones et la tétracycline) (**El-anzi, 2014**).

Les Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS) inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosomes et l'ARN de transfert. Les mécanismes de résistances aux macrolides (érythromycine, spiramycine), lincosamides (clindamycine) et streptogramines (pristinamycine, quinupristine-dalfopristine) comprennent la modification de la cible, des systèmes d'efflux et des enzymes inactivatrices (**Touaitia, 2016**).

Aujourd'hui presque toutes les souches de *S. aureus* sont résistantes aux pénicillines naturelles, celle-ci implique aussi une résistance à l'ampicilline, l'amoxicilline, la ticracilline, la pipéracilline et à l'aminopénicilline (**Rice, 2006**).

Les bêta-lactamines ont pour cibles différentes enzymes (PLP) impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. La fixation des bêta-lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane et secondairement la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort (**Daurel et Leclercq, 2008**). Cependant dès 1942, les

premières souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline par production d'une pénicillinase ont fait leurs apparitions qui hydrolyse le cycle β -lactame de la pénicilline et les rend inactive (Mark et al, 2011).

IV.3.2. Staphylocoques Coagulase Négatifs

D'après nos résultats, il s'avère que les *Staphylococcus spp* (SCN) isolés ont été sensibles aux: Chloramphénicol, vancomycine, Gentamycine, Cotrimoxazole, Ciprofloxacine, Ofloxacine, Rifampicine, Fosfomycine, Ampicilline et Amoxicilline + acide clavulanique.

Par ailleurs, elles ont montré une résistance importante vis à vis la Pénicilline, Oxacilline, Erythromycine, Clindamycine, Tétracycline, Acide fusidique, Amikacine, Pristinamycine et Lévofloxacine.

On remarqué chez SCP un développement de certains résistance à l'oxacilline (37,50%). Cependant, chez SCN ont été un taux de résistance très élevé (92.31%).

Afissa (2014) a démontré que le Staphylocoques à coagulase négative présent une résistance importante vis-à-vis des ATB appartenant à la famille de β -lactamine et également à la famille des aminosides exception faite pour la Kanamycine qui s'est révélée active sur 65% des SCN isolées, Pénicilline 80%, Amikacine (50%) et a l'Acide fusidique (65%).

De son part, **Boukaa (2013)** a apporté que toutes les souches de SCN isolées ont été sensibles à la Vancomycine et résistance à l'Erythromycine et la Pénicilline.

Cerca et al., (2005) ont démontré l'importance de la production de biofilm dans le développement d'infections et de maladies qui confère la résistance à des antibiotiques, par comparaison quantitative de la sensibilité aux antibiotiques de *S. epidermidis* sous la forme sessile et planctonique.

Les antibiotiques de la famille des Pénicillines pénètrent difficilement dans les biofilms constitués de staphylocoques, car ces bactéries fabriquent une enzyme, nommée beta-lactamase, qui dégrade l'antibiotique plus rapidement que celui-ci ne diffuse dans le biofilm. (Stewart et Costerton, 2001).

Djeloul-daouadji (2010) a trouvé que les staphylocoques à coagulase négatifs sont résistances à l'oxacilline avec un taux 94,42%

De son part, Cui et *al.*, (2013) ont trouvé un taux très important de souches résistantes à l'oxacilline (85%). Ce qui pourrait encore une fois confirmer que le mécanisme de modification de la cible a été à l'origine de cette résistance. Il est à noter que le mécanisme d'hyperproduction de pénicillinases peut être également responsable de l'hydrolyse des pénicillines du groupe M (Méticilline, oxacilline) mais ce mécanisme génère un bas niveau de résistance (**Bismuth et Leclercq, 2000**).

Les staphylocoques résistants à la méthicilline (Oxacilline) posent un problème important et persistant pour le traitement de l'infection causée par ces souches. La résistance est généralement conférée par l'acquisition d'un gène non natif codant pour une protéine de liaison à la pénicilline (PBP2a), avec une affinité nettement plus faible pour les β -lactamines. Cette résistance permet la poursuite de la biosynthèse de la paroi cellulaire, cible des β -lactamines, même en présence de concentrations typiquement inhibitrices d'antibiotiques. PBP2a est codé par le gène *mecA*, qui est véhiculé par un élément génétique distinct (SCC*mec*), dont l'expression est contrôlée par une voie de transduction de signal protéolytique comprenant une protéine capteur (MecR1) et un répresseur (MecI) (**Peacock et al., 2015**).

En revanche, les SCN sont plus aptes à adhérer à la surface des dispositifs médicaux leur confèrent un caractère virulent donc ce groupe doit tenir plus d'attention et suivre les mêmes mesures d'hygiène établies pour *S. aureus* (Afissa, 2014). Selon Tchougoune (2007) les souches productrices de méticillinase capable d'hydrolyser la méticilline, en absence de gène *mec A*. Ce pendant, les souches résistantes à bas niveau à l'oxacilline et non productrices de bêta-lactamase présentent une modification d'affinité de leurs PLP, normales vis-à-vis des bêta- lactamines (**Tchougoune, 2007**).

CONCLUSION

Conclusion

Sur l'ensemble des 1768 échantillons testés, la présence des staphylocoques a été marquée dans 57 prélèvements sur un totale de 469 des souches isolées, Soit une prévalence de 12,15% pour les infections à staphylocoques, causées principalement par les SCP.

La Vancomycine, la Gentamycine, la Chloramphénicol, la Ciprofloxacine, l'Ofloxacine, Fosfomycine, Cotrimoxazole et Ampicilline ont montré une activité importante sur la totalité des espèces étudiées, cet antibiotique demeure les molécules de choix contre les infections à staphylocoques.

L'étude de antibioresistance des bactéries a révélé un taux de résistance élevé des staphylocoques (SCP et SCN) à la Pénicilline et la Pristinamycine. Cependant, on a marqué que les SCN ont développé une résistance importante à l'Oxacilline (92,30 %).

La gravité des infections associées aux dispositifs médicaux est liée au développement de la résistance bactérienne à des nombreux antibiotiques. La surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques doit être continue et systématique, basée sur une politique de prescription des antibiotiques de chaque service, la prévention des infections nosocomial et des études épidémiologiques prospectives.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(A)

- 1) Afissa H. 2014. Etude de l'antibiorésistance des souches de Staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf Ouargla. Mémoire de master en microbiologie, université kasdimerbah-ouargla, Algérie. 34 p.
- 2) Alioua M. 2015. Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline. Thèse de doctorat en microbiologie, université badjimokhtar – annaba, Algérie. 221 p.
- 3) Aouati, H. (2009). isolement des souches de *Staphylococcus aureus* resistances à laméthecillines: etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, algerie: thèse N°: 006.
- 4) Arvidson and Tegmark K. 2001. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Med. Microbiol.* 291, 159–170.
- 5) Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (1992). *Bactériologie clinique*. 2ème Edition, Ellipses, Paris. 11-28.

(B)

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

(C)

- 7) Cerca N, Martins S, Cerca F, Jefferson K , Pier G.B, Oliveira R, Azeredo J. (2005). Comparative assessment of antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci in biofilm versus planktonic culture as assessed by bacterial enumeration or rapid XTT colorimetry. *J. Antimicrob. Chemother.* 56, 331-6
- 8) Costerton P.S, Stewart E.P, Greenberg E.P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284. 1318-1322.
- 9) Cui B, Smooker PM, Rouch DA, Daley AJ, Deighton MA. Differences between two clinical *Staphylococcus capitis* subspecies as revealed by biofilm, antibiotic resistance, and pulsed-field gel electrophoresis profiling. *J Clin Microbiol.* 2013 Jan;51(1):9–14.

(D)

- 10) Daurel C, Leclercq R. l'antibiogramme de Staphylococcus aureus. Revue francophone des laboratoires ; 2008, N°407 : 81-90.
- 11) Delarras, C. (2007). microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris: Lavoisier.
- 12) Djelloul daouadji S. 2010. détection de biofilm a staphylocoques sur catheters veineux. Mémoire de magister en biochimie, université aboubekrbelkaid-Tlemcen, Algérie. 77 p.

(E)

- 13) El-Anzi O. 2014. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylococcus aureus isolées au centre hospitalier ibn sina de rabat. Thèse de doctorat en médecine, université mohammed v- souissi , rabat, Maroc. 104 p.
- 14) El Kour, D. P. (2003). Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC, maladies infectieuses , [8-007-A-10].

(H)

- 15) Henri D. et Jean-Louis C. et Malewiak m. I. et Leynaud C. et Berthier A.M. (1992). Alimentation et nutrition humaines. Ed. ESF. P 747.

(G)

- 16) Garrity GM, Johnson KL, Bell J et Searles DB. (2007). 2007. Bergey 's Manual of Systematic Bacteriology. 2ème Edition. New York.
- 17) Ghernaout-benchouk S. 2013. Prevalence du portage nasal de staphylococcus aureus : son role dans l'infection du site operatoire. Thèse de doctorat en sciences médicales, université aboubekrbelkaid-Tlemcen, Algérie. 197 p.
- 18) Gordon L., Cloeckert A., Doublet B., Schwarz S., Bouju-Albert A., Ganiere J.P., Le Bris H., Le Fleche-Mateos A., Giraud E. 2008. Complete sequence of the floR carrying multiresistance plasmid pAB5S9 from fresh water Aeromonas bestiarum. J. Antimicrob. Chemother. 62, 65–71
- 19) Gravet A., Couppié P., Meunier O., Clyti E., Moreau B., Pradinaud R., Monteil H.,

Prévost G. 2001. Staphylococcus aureus isolated from impetigo produces both epidermolysins A or B and LukE+LukD in 78% of 131 retrospective and prospective cases. J. Clin. Microbiol. 39: 49-56.

(I)

20) Idri L, Ait bouda S. 2016. Etude de la résistance aux antibiotiques de souches de Staphylococcus aureus isolées de l'hôpital. Mémoire de master en microbiologie, université a. mira – bejaia, Algérie. 33 p.

(J)

21) Jean-Paul L. (1997). Microbiologie alimentaire technique de laboratoire. Ed. Lavoisier tec et doc. Paris. P 257.

(L)

22) Larpent P. (1997). Microbiologie alimentaire (techniques de laboratoire). Ed. Longres. Paris. P 1073.

23) Leclercq R. 1999. Antibiorésistance chez les bactéries pathogènes pour l'homme. Journées nationales GTV-INRA, 149-53.

24) Leclercq R. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. Ann Fr Anesth Réanim 2002 ; 21: 375-83.

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

(M)

26) Manuel terrestre de l'OIE. 2008. Méthodes de laboratoire utilisées pour les essais d'antibiorésistance. Chapitre 1.1.6, 62-68.

27) Marchal N., Bourdon J.L., Richard C.L. 2005. Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Edition Dion –Paris. pp 326-329.

28) Marchal N. and Bourdon JL. 1973. Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. DOIN. Paris. 99-105.

29) Michel F. (2005). Bactériologie alimentaire. 2^{ème} Ed. Economica. Paris. P 45-47, 219.

- 30) Michel M. et John M. et Thomas B. (2007). Biologie des microorganismes. 11^{ème} Ed. Pearson éducation France. Paris. P 379.
- 31) Mohamed Nour. Le staphylocoque doré résistant à la méticilline : émergence et bases moléculaires de la résistance, Pathologie Biologie 53 (2005) 334–340
- 32) Muller A, Lopez-Lozano JM, Bertrand X, Talon D. Relationship between ceftriaxone use and resistance to third-generation cephalosporins among clinical strains of *Enterobacter cloacae*. J Antimicrob Chemother. 1 juill 2004;54(1):173–7.

(O)

- 33) Organisation Mondiale de la Santé. Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens. 2018. Disponible sur: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/fr/>

(P)

- 34) Peacock SJ, de Silva I, Lowy FD. What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? Trends Microbiol(2001) 9 : 605-610.
- 35) Pierre J. (1998). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris. P 177.

(R)

- 36) Rice. 2006. Antimicrobial Resistance in Gram-Positive Bacteria. The American Journal of Medicine 119, 11–19
- 37) Rebiahi S. 2012. caractérisation de souches de *staphylococcus aureus* et étude de leur antibioresistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de tlemcen. Thèse de doctorat en microbiologie, université de tlemcen, Algérie. 117 p.

(S)

- 38) Stewart P.S, Costerton J.W. (2001). "Antibiotic resistance of bacteria in biofilms." Lancet 358 (9276): 135-8.

(T)

- 39) Tattevin P. Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire, Médecine et maladies infectieuses 41 (2011); 167–175

- 40) Tchougoune M. 2007. Prévalence des souches de Staphylococcus aureus résistantes à la méticilline au CHU du Point G. Thèse de doctorat en pharmacie, université de bamako, Mali. 89 p.
- 41) Touaitia R. 2016. Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de doctorat en microbiologie, univrsitebadjimokhtar – annaba, Algérie. 125 p.

(V)

- 42) Von Eiff C, Peters G, Heilmann C. (2002). Pathogenesis of infections due to coagulase negative staphylococci. Lancet Infect Dis.2:677-85.

ANNEXES

Annexe 01

Les types de prélèvement

Urine

Eliminer le 1er jet (20 ml) d'urines pour ne recueillir dans un flacon stérile que les 20 ml suivants au minimum en prenant soin de ne pas toucher le bord supérieur du récipient. Fermer hermétiquement le flacon, l'identifier très précisément et le porter immédiatement au laboratoire accompagné de sa prescription et de l'heure de prélèvement.

Selles

L'échantillon de selles doit être recueilli dans un récipient propre, sec et qui se ferme avec un couvercle vissé, il faut essayer au maximum de ne pas recueillir d'urine ou d'eau des toilettes avec l'échantillon de selles le mieux étant d'urine d'abord.

Hémoculture

Le prélèvement fait par ponction veineuse au niveau d'une veine superficielle en évitant toute contamination par les germes cutanées pour n'est pas gêner l'interprétation plus tard (l'antisepsie cutanées doit être parfaite).les volumes de sang à ensemercer: chez l'adulte recommandé est de 10 ml par flacon cependant chez le nouveau né 1 ml est nécessaire.

Ponction lombaire (LCR)

Le prélèvement est réalisé dans le bas du dos, après repérage de l'espace situé entre les vertèbres lombaires L4 et L5 et désinfection locale. Le patient reste assis ou allongé sur le côté en position fœtale. Le médecin vient alors introduire une aiguille à ponction lombaire jusque dans le cul-de-sac dural. Recueillir 5 à 10 ml de LCR dans 3 tubes stériles successifs pour permettre des explorations bactériologiques, cytologiques et biochimiques.

Pus

Les prélèvements sont d'origine très diverse: soit à la seringue purgée d'air en évitant de contaminer par flore commensale; soit lors d'une biopsie (os, tissus). Le produit pathologique étant souvent poly microbien, il est important d'éviter pendant le transport qu'une bactérie puisse se développer au détriment d'une autre.