

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
LABORATOIRE DE RECHERCHE : BIOTECHNOLOGIES,
ENVIRONNEMENT ET SANTE

Mémoire de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : « Microbiologie »

Thème :

**Isolement, identification de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline
et étude de leur profil de résistance aux antibiotiques.**

Soutenu le : 14.07.2019

Réalisé et présenté par :

M^{elle} BELAL Ines.

M^{elle} CHERGUI Zineb.

Devant le jury :

Mme CHELGHOUM H.	MCB	Université de Blida 1	Présidente
Mme DEBIB A.	MCA	Université de Tipaza	Examinatrice
Mme HAMAIDI F.	MCA	Université de Blida 1	Promotrice
Mlle LACEB Z.	Doctorante	Université de Blida 1	Co-promotrice

Promotion 2018-2019

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à notre promotrice et professeur **Mme Hamaidi** pour nous avoir encadrés et pour sa disponibilité tout au long de notre travail.

Nous remercions également notre Co-promotrice **M^{lle} Laced Zahoua** pour son soutien, sa sympathie, ses conseils, et sa disponibilité tout au long de ce travail.

Par ailleurs nous remercions, les membres du jury **Mme Chelghoum**. Qui a bien accepté de nous faire l'honneur de présider ce jury.

C'est avec un très grand plaisir qu'on remercie infiniment **Mme Debbib**, d'avoir bien voulu examiner ce modeste travail, qu'elle trouve ici notre très profonde gratitude.

Nous adressons nos chaleureux remerciements à **M^{lle} BOUADJEDIA Imene** pour son aide, ses précieux conseils, ses encouragements, et sa gentillesse.

Nous vous exprimons nos chers enseignants, notre plus profond respect et nos sincères reconnaissances.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Mon cher papa

École de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années de mes études et à mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, m'aider et me protéger.

Ma chère maman

Qui m'a donné la vie, le symbole de la tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi.

Soyez fière de moi aujourd'hui et voyez à travers ce travail mon amour sincère et ma gratitude profonde que dieu vous garde et vous protège pour moi inshallah.

A ma chère sœur « Imen »

A mes frères « Farouk et Houssein »

Pour votre soutien moral et vos précieux conseils tout au long de mes études.

A mon binôme « Ines »

Qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail

Je te souhaite la réussite dans ta vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour te combler.

J'ai de la chance de t'avoir.

Que Dieu vous garde.

A mes chères copines intimes « Soumia et Rofeida »

Qui étaient avec moi depuis le début Jusqu'à maintenant que dieu préserve notre amitié.

A mes adorables amies « Kami, Afifa, Zineb et Kenza »

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de

réussite et de sérénité.

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

Zineb.

Dédicace

*Avec l'aide du tout Puissant, on a pu réaliser ce
modeste travail que je dédie :*

A ma chère maman

*La lumière de ma vie qui m'a toujours soutenu en toutes circonstances, et à qui je ne
saurais exprimer ma profonde gratitude.*

A mon père

Qui m'a soutenu moralement pour que je puisse avoir une bonne formation.

*Puisse Dieu, vous accorder santé, bonheur et longue vie. Et faire en sorte que jamais je ne
vous déçoive.*

A ma chère tante Wahiba

*Que je remercie sincèrement de nous avoir apporté son aide, et d'avoir répondu
présente à chaque fois qu'on a eu besoin d'elle. Je ne saurais jamais te remercier pour ta
chaleur maternelle.*

A mon binôme Zina

*Merci pour ta sympathie, ta patience, ton soutien dans les moments difficiles. Tant de
joie et de déception, tant d'obstacles surmontés ensemble. Nos souvenirs resteront à jamais
gravés dans nos mémoires.*

A ma sœur Soumia

*Pour tous nos fabuleux moments passés ensemble, et pour tout le soutien que tu m'as
apporté depuis tant d'année.*

*A mes chères copines, **Kami, Afifa, Kenza et Zineb**², avec qui j'ai passé des moments
inoubliables et à qui je souhaite un très bon parcours professionnel. Puisse dieu vous donné
santé, bonheur, courage et réussite.*

Ines.

Résumé

Staphylococcus aureus est un agent pathogène majeur de l'Homme, impliqué dans les infections acquises en milieu hospitalier (infections nosocomiales). Le traitement des infections à *Staphylococcus aureus* est de plus en plus difficile en raison de la prévalence élevée des souches multirésistantes aux antibiotiques.

Les résultats de l'identification des souches isolées des prélèvements effectués au niveau des différents sites de l'environnement hospitalier de Boufarik dans le service de chirurgie et de réanimation ont permis de répertorier 47 souches de *Staphylococcus aureus* dont le taux est de 29,94% dont 20 *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline soit 12,74% et 27 *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline soit 17,20%.

L'étude du profil de résistance aux antibiotiques des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline, montre que plus de 50% des souches étaient multirésistantes. Ces souches présentaient 100% de résistance vis-à-vis des β -lactamines, 80% de résistance vis-à-vis de l'acide fusidique, 65% de résistance à la kanamycine et 60% au cotrimoxazol. La vancomycine et la pristinamycine étaient actives sur toutes les souches isolées.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, milieu hospitalier, infections nosocomiales, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, résistance aux antibiotiques.

Summary

Staphylococcus aureus is a major human pathogen involved in hospital-acquired infections (nosocomial infections). The treatment of *Staphylococcus aureus* infections is becoming increasingly difficult due to the high prevalence of multi-resistant strains of antibiotics.

The results of the identification of strains isolated from the samples taken at the various sites of the Boufarik hospital environment in the general surgery and intensive care unit made it possible to identify 47 strains of *Staphylococcus aureus* with a rate of 29.94%, including 20 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 12.74% and 27 methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* 17.20%.

The study of the antibiotic resistance profile of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* shows that more than 50% of the strains were multiresistant. These strains had 100% resistance to β -lactamins, 80% resistance to fusidic acid, 65% resistance to kanamycin and 60% resistance to cotrimoxazol. Vancomycin and pristinamycin were active on all of them.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Hospital, nosocomial infections,. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance.

ملخص

Staphylococcus aureus هي أحد مسببات الأمراض البشرية الرئيسية المشاركة في العدوى المكتسبة في المستشفيات (عدوى المستشفيات). علاج الأمراض المعدية لـ *Staphylococcus aureus* يزداد صعوبة بسبب الانتشار العالي للسلاسل المقاومة للمضادات الحيوية.

أُتاحت نتائج التعرف على السلاسل المعزولة من العينات المأخوذة من مواقع مختلفة من بيئة مستشفى بوفاريك في قسم الجراحة والإنعاش 47 سلالة من *Staphylococcus aureus* التي يبلغ معدلها 29.94%، 20 منها *Staphylococcus aureus* المقاومة للميتيسيلين 12.74%، و 27 *Staphylococcus aureus* الحساسة للميتيسيلين 17.20%.

أظهرت دراسة المقاومة للمضادات الحيوية لـ *Staphylococcus aureus* المقاومة للميتيسيلين أن أكثر من نصف السلاسل كانت مقاومة للأدوية المتعددة، وأظهرت مقاومة بنسبة 100% للبيتا لكتام، ومقاومة 80% لحمض الفوسيديك، ومقاومة 65% للكاناميسين و 60% لكوتريموكسازول.

من جانب آخر أثبت كل من الفانكوميسين و البريستيناميسين فعالية تامة ضدّ كل سلالات الـ *Staphylococcus aureus* المقاومة للميتيسيلين المعزولة التي تمّ إختبارها.

الكلمات المفتاحية: *Staphylococcus aureus*، عدوى المستشفيات، مستشفى، *Staphylococcus aureus* المقاومة للميتيسيلين، المقاومة للمضادات الحيوية.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. <i>Staphylococcus aureus</i> vu au microscope électronique à balayage.....	4
Figure 2. Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	5
Figure 3. Organigramme de l'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	19
Figure 4. Répartition des résultats des différents prélèvements effectués.....	32
Figure 5. Représentation des résultats selon le type de culture bactérienne.....	33
Figure 6. Prévalence globale de <i>Staphylococcus aureus</i> dans l'environnement hospitalier...	34
Figure 7. Répartition de <i>Staphylococcus aureus</i> selon les services	35
Figure 8. Fréquence de <i>Staphylococcus aureus</i> dans les salles de la réanimation.....	36
Figure 9. Figure de <i>Staphylococcus aureus</i> dans les salles de chirurgie.....	37
Figure 10. Taux de <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline dans l'environnement hospitalier.....	37
Figure 11. Taux des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méticilline.....	39
Figure 12. Phénotypes de résistance des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline aux aminosides.....	42
Figure 13. Phénotype de résistance des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline aux macrolides-lincosamides-streptogramines.....	43
Figure 14. Répartition des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline selon leurs résistances et sensibilités aux antibiotiques.....	46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Caractères biochimiques de *Staphylococcus aureus*.....5

Tableau II. Protéines de surface exprimées par *Staphylococcus aureus*.....6

Tableau III. Toxines sécrétées par *Staphylococcus aureus*.....7

Tableau IV. Enzymes produites par *Staphylococcus aureus*7

Tableau V. Zones à risque à l’hôpital.....11

Tableau VI. Résistance de *Staphylococcus aureus* aux autres familles d’antibiotiques.....15

Tableau VII. Souches de référence utilisées.....18

Tableau VIII. Différents sites et nombres de prélèvements.....20

Tableau IX. Différents antibiotiques testés avec la charge des disques..... 26

Tableau X. Résultats de l’identification des isolats.....30

Tableau XI. Fréquence des types de cultures bactérienne aux différents sites de prélèvement33

Tableau XII. Répartition de *Staphylococcus aureus* par rapport aux autres germes.....34

Tableau XIII. Fréquence de *Staphylococcus aureus* au niveau des sites de prélèvement.....38

Tableau XIV. Fréquence de *Staphylococcus aureus* au niveau des sites de prélèvement.....39

Tableau XV. Les phénotypes de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline.....41

Tableau XVI. Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistances.....41

Tableau XVII. Principaux phénotypes de résistance aux macrolides-lincosamides-streptogramines chez *Staphylococcus aureus*.résistant à la méticilline43

Tableau XVIII. Répartition des souches selon la concentration minimale inhibitrice.....44

Tableau XIX. Répartition des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline selon leurs résistances aux antibiotiques.....45

LISTE DES ABREVIATIONS

ADH : Arginine Dihydrolase.

ATCC : American Type Culture Collection.

BGT: Bouillon glucosé tomponné.

BHIB: Brain-Heart Infusion Broth.

BORSA: Borderline Oxacillin Resistant *Staphylococcus aureus*.

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme De La Société Française De Microbiologie.

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire.

CIfA: Clumping Factor A.

CIf B: Clumping Factor B.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DHFR : Dihydrofolate Réductase.

DHPS : Dihydroptéroate Synthétase.

DNase : Désoxyribonucléase.

EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance System.

EF-G : Facteur d'Élongation G.

EPH : Etablissement Public Hospitalier.

Ets : Exfoliative toxins.

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

FAME: Fatty Acid Modifying Enzyme.

FnBPA : Fibronectin-Binding Protein A.

FnBPB : Fibronectin-Binding Protein B.

FQ : Fluoroquinolones.

GN : Gélose Nutritive.

GISA : Glycopeptide Intermediate *Staphylococcus aureus*.

HLA : Hémolysines A .

ISO : International Standards Organization.

IU : Infection Urinaire.

LPV : Leucocidine de Panton-Valentine.

LTA : Lipo Teichoic Acid.

MF: Mac Farland.

MH: Mueller-Hinton.

MAC : Macrolides.

MLS_B : Macrolides, Lincosamides, Streptogramines b inductible.

MODSA: Modified *Staphylococcus aureus*.

MSCRAMM : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PLP : Protéine Liant la Pénicilline.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

SCCmec : Staphylococcal Cassette Chromosome Mec.

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative.

SSSS: Staphylococcal Scalded Skin Syndrome.

TSST-1 : Toxic Shock Syndrome Toxin-1.

VISA : Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus*.

VRSA : Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus*.

AMK : Amikacine.

CIP : Ciprofloxacine.

CND : Clindamycine.

E : Erythromycine.

FAD : Acide fusidique.

FOX : Céfoxitine.

GMN : Gentamicine.

OFX : Ofloxacine.

PEN : Pénicilline.

PTN : Pristinamycine.

RIF : Rifampicine.

SXT : Cotrimoxazole.

TET : Tétracycline.

TOB : Tobramycine.

URE : Uréase.

VAN : Vancomycine.

WTA : Wall Teichoic Acid.

GLOSSAIRE

La folliculite : est une infection très superficielle localisée à l'ostium folliculaire, qui se manifeste par une pustule folliculaire, sans inflammation périphérique. Elle évolue vers une croûte qui tombe en quelques jours. Elle ne laisse pas de cicatrice (**Larquey et Mahé, 2018**).

Le furoncle : correspond à une nécrose totale du follicule pilo-sébacé et du derme avoisinant. Il est secondaire à une folliculite et dû à la sécrétion d'une toxine nécrosante de staphylocoque doré. Il se manifeste par un nodule inflammatoire douloureux qui évolue en quelques jours vers une suppuration avec évacuation spontanée de pus correspondant au follicule nécrotique. Il laisse une cicatrice déprimée (**Larquey et Mahé, 2018**).

L'anthrax : infection profonde et confluyente de plusieurs follicules pilo-sébacés adjacents, responsable d'un placard inflammatoire suppurant à la peau par les ostium folliculaires. Il est parfois fébrile (**Larquey et Mahé, 2018**).

Panaris : infection de la pulpe du doigt. (**Caby et al., 2010**)

Le choc toxique staphylococcique : il est décrit chez les enfants, les femmes portant des tampons hygiéniques, ou lors d'infections cutanées ou profondes. Le staphylocoque produit une toxine TSST1 ou des entérotoxines. Le début est brutal avec une fièvre, une altération de l'état général, des signes digestifs et un état de choc, avec éventuellement une défaillance multi-viscérale. Sur le plan cutané, il existe un exanthème scarlatiniforme suivi d'une desquamation dans les 10 à 20 jours. (**Larquey et Mahé, 2018**)

Nécrolyse épidermique staphylococcique ou staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) : est une dermatose bulleuse généralisée due aux toxines exfoliatrices du staphylocoque doré. Il touche le nouveau-né et les jeunes enfants. La toxine est produite par le staphylocoque dans le foyer primaire infectieux (pulmonaire, ORL, ophtalmologique, ou cutané), dissémine par voie hématogène, et va provoquer un décollement bulleux généralisé par diffusion systémique. (**Larquey et Mahé, 2018**)

Intoxication alimentaire staphylococcique : le syndrome est lié à l'ingestion de l'une des diverses exotoxines bactériennes résistantes à la chaleur. Puisque la toxine préformée est présente dans la nourriture et que la réplication bactérienne n'est pas nécessaire, la maladie se caractérise par la rapidité de son apparition et de la résolution des symptômes comme :

les nausées et vomissements de caractère souvent explosif. Les patients ne sont pas fébriles **(Larquey et Mahé, 2018)**

Endocardite : les endocardites surviennent plus souvent sur une valvulopathie qui préexiste, et sont plus rares sur un endocarde sain. Le tableau clinique est aigu et brutal avec une mortalité élevée de l'ordre de 25 % à 50 %. Les complications neurologiques sont particulièrement fréquentes avec *S. aureus* **(Caby et al., 2010)**.

Abcès cutanés : les abcès cutanés à *S. aureus* peuvent succéder au tableau de dermohypodermite aiguë formant un placard inflammatoire très douloureux qui évolue après quelques jours vers l'apparition d'une fluctuation à la palpation. Le traitement est médicochirurgical **(Caby et al., 2010)**.

Ostéomyélite : maladie infectieuse grave du tissu osseux due au *Staphylococcus aureus* qui contamine l'os par voie sanguine à partir d'une infection locale (plaie infectée, abcès, fracture ouverte). Elle se déclare surtout chez l'enfant et les adolescents. **(Larousse médicale, 2006)**

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Glossaire	
Introduction.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. CARACTERES GENERAUX DE <i>Staphylococcus aureus</i>	4
I.1. Classification	4
I.2. Niche écologique.....	4
I.3. Caractères bactériologiques	4
I.4. Facteurs de virulence	5
I.5. Pouvoir pathogène de <i>Staphylococcus aureus</i>	8
I.6. Epidémiologie des SARM.....	9
II. ENVIRONNEMENT HOSPITALIER ET INFECTION NOSOCOMIALE	10
II.1. Définition d'infection nosocomiale.....	10
II.2. Principales infections nosocomiales.....	10
II.3. Zones à risque à l'hôpital.....	11
II.4. Agents causals.....	11
II.5. Mode de transmission.....	11
III. RESISTANCE DE <i>S. aureus</i> AUX ANTIBIOTIQUES	12
III.1. Définition d'un antibiotique.....	12
III.2. Définition de la résistance.....	12
III.3. Résistance aux bêta-lactamines.....	12
III.4. Résistance à la méticilline chez le <i>S. aureus</i> (SARM).....	13
III.5. Résistances aux autres familles d'antibiotiques.....	14

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES.....	18
I. 1. Matériel.....	18
I.1. Matériel biologique.....	18
I.2. Matériel non biologique.....	18
I. 2. Méthodes.....	18
I.2.1. Prélèvement.....	20
I.2.2. Mise en culture.....	20
I.2.3. Identification de <i>Staphylococcus aureus</i>.....	20
I.2.3.1. Examen macroscopique.....	20
I.2.3.2. Examen microscopique : coloration de Gram.....	21
I.2.3.4. Identification biochimique.....	21
I.2.3.5. Test d'agglutination par PASTOREX®STAPH-PLUS.....	22
I.2.3.6. Recherche d'une DNase (Désoxyribonucléase).....	23
I.2.3.7. Galerie API 20 STAPH.....	23
I.2.4. Détection des souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la méticilline.....	24
I.2.4.1. Screening par le disque de céfoxitine.....	24
I.2.4.1. Recherche de la PLP2a.....	24
I.2.5. Antibiogramme des SARM par la méthode de diffusion sur milieu solide.....	25
I.2.5.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la vancomycine par la technique de dilution sur milieu gélosé.....	27
I.2.6. Analyse statistique.....	28
II. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	30
II.1. Résultats des tests d'identification de <i>S. aureus</i> et de la recherche des SARM.....	30
II.2. Taux de positivité selon l'échantillonnage.....	32
II.3. Type de culture bactérienne.....	32
II.4. Taux de <i>Staphylococcus aureus</i> par rapport aux autres germes.....	34
II.5. Prévalence globale de <i>S. aureus</i> dans l'environnement hospitalier.....	34
II.5.1. Répartition de <i>S. aureus</i> selon les services.....	35
II.5.1.1. Fréquence de <i>S. aureus</i> dans les salles de la réanimation.....	36
II.5.1.2. Fréquence de <i>S. aureus</i> dans les salles de chirurgie.....	36
II.6. Taux de SARM dans l'environnement hospitalier.....	37
I.7. Répartition de <i>S. aureus</i> selon les sites de prélèvements.....	38

II.8. Etude de la résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques	39
II.8.1. Détection de SARM par le screening test.....	39
II.8.2. Etude du phénotype de résistance des souches SARM.....	40
II.8.3. Répartition des phénotypes de résistance aux aminosides.....	41
II.8.4. Répartition des phénotypes de résistance aux Macrolides-Lincosamides- Streptogramines (MLS).....	42
II.8.5. Répartition des souches SARM selon la CMI.....	44
II.8.6. Taux de résistance des souches.....	44
CONCLUSION	50
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

INTRODUCTION

Dans toutes les régions du monde, les hôpitaux offrent un écosystème propice à la diffusion des agents potentiellement pathogènes. Cette structure considérée également un endroit où se trouve quotidiennement un grand nombre de personnes pour y recevoir des soins, ces personnes peuvent être plus vulnérables aux infections notamment celles acquises sur place, on parle alors d'infections nosocomiales (**Alessandro, 2012**).

Parmi les micro-organismes les plus incriminés dans ces infections, *Staphylococcus aureus* occupe une place privilégiée. Son pouvoir pathogène, son caractère ubiquiste et l'absence d'exigences nutritionnelles font de cette bactérie un exemple d'adaptation et de dissémination surtout lors des ruptures de la barrière cutanée, ou l'immaturation du système immunitaire (**Rebiahi, 2012**).

Staphylococcus aureus est un pathogène majeur en santé humaine, responsable d'infections cutanées, respiratoires, ostéo-articulaires ou septicémiques. L'Homme est le principal réservoir de *S. aureus*, un pourcentage important de la population (30%) est composé de porteurs sains asymptomatiques. Le portage asymptomatique est considéré comme un facteur de risque d'infection (**Grohs, 2018**).

L'émergence et la propagation de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline cause un nombre extrême d'infections. Sa capacité d'adaptation et de résistance aux différents antimicrobiens a potentiellement favorisé sa propagation dans les hôpitaux et dans la communauté ce qui constitue un défi mondial pour le traitement des infections causées par ces bactéries. Les infections causées par des bactéries résistantes prolongent la durée d'hospitalisation et augmente le coût des services de santé (**Moreno-Flores et al., 2017 ; Yilmaz et Aslantas, 2017**).

Actuellement et selon le Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (**2016**), le taux des SARM était à environ 42,93% en 2014.

Le point de départ de notre étude a été d'évaluer l'incidence et la prévalence de *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline (SARM), isolés à partir du milieu hospitalier de l'EPH de Boufarik sur une période de 4 mois dans le laboratoire de microbiologie du laboratoire d'hygiène de Blida.

L'objectif de notre étude est de réaliser une analyse phénotypique des souches de *S. aureus* résistant à la méticilline. Pour développer ces aspects, nous avons effectué la démarche suivante :

- L'isolement et l'identification des SARM à partir de différents sites du milieu hospitalier dans le service de réanimation et de chirurgie.
- Etudier le profil de résistance des souches SARM vis-à-vis de certaines familles d'antibiotique.

Synthèse bibliographique

I. CARACTERES GENERAUX DE *Staphylococcus aureus*

I.1. Classification

Selon Denis et al., (2016), la classification de *S. aureus* est représentée comme suit :

- Règne : *Bacteria* ou *Eubacteria*.
- Phylum : *Firmicutes*.
- Classe : *Bacilli*.
- Ordre : *Bacillales*.
- Famille : *Staphylococcaceae*.
- Genre : *Staphylococcus*.
- Espèce : *Staphylococcus aureus*.

I.2. Niche écologique

Les staphylocoques sont présents dans l'environnement (air, sol, eau, aliments, mobilier, matériels), et vivent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses de l'Homme et des animaux. *S. aureus* colonise préférentiellement la muqueuse nasale, où il est présent chez environ 30 % des individus en dehors de tout contact hospitalier. Le portage de *S. aureus* peut être intermittent ou persistant selon les individus (Caby et al., 2010 ; Denis et al., 2016).

I.3. Caractères bactériologiques

a. Caractères morphologiques

Après coloration de Gram, les staphylocoques apparaissent comme des cocci à Gram positif de 0,8 à 1 µm de diamètre, immobiles, isolés, en diplocoques, en courtes chainettes ou plus classiquement en amas. L'aspect en tétrade ou grappe de raisin correspond à la disposition la plus caractéristique (Denis et al., 2016).

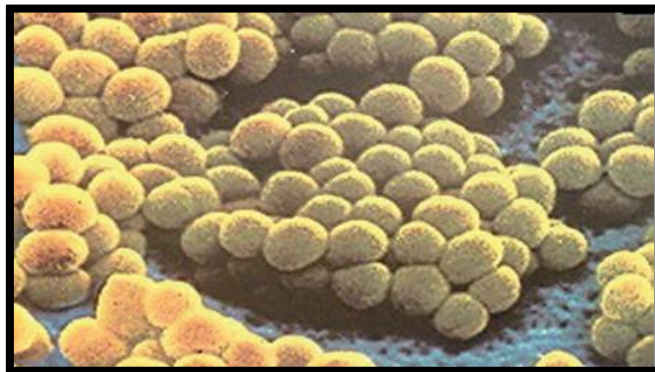


Figure 1. *S. aureus* vu au microscope électronique à balayage (Denis et al., 2016).

a. Caractères cultureux

Les staphylocoques sont des germes peu exigeants et peuvent être isolés en bouillon ou sur milieux solides simples, tels que gélose ordinaire ou gélose au sang à 35–37 °C en aérobiose. Sur des milieux usuels, les colonies sont de taille variable (1 à 3 mm), circulaires, lisses, opaques, légèrement bombées ou aplaties. La pigmentation varie du blanc au jaune ou au jaune orangé. Sur gélose au sang, les souches « typiques » de *S. aureus* peuvent produire des colonies de couleur jaune dorée d'où l'appellation « staphylocoque doré » entourées d'une hémolyse β (Denis et al., 2016).

b. Caractères enzymatiques et biochimiques

Les principaux caractères biochimiques de *S. aureus* sont résumés dans le tableau I.

Tableau I. Caractères biochimiques de *Staphylococcus aureus*.

Oxydase	Catalase	Furanes	Coagulase libre	DNase	Coagulase liée	Mannitol	Polymyxine B
-	+	S	+	+	+	+	R

(Grosjean et al., 2017).

I.4. Facteurs de virulence

S. aureus produit de nombreux facteurs de virulence : protéines de surface ou des exoprotéines permettant à la bactérie de combattre le système immunitaire, d'adhérer aux cellules et de disséminer dans l'hôte (Caby et al., 2010).

Les principaux facteurs de virulences exprimées par *S. aureus* sont résumés dans la Figure 2.

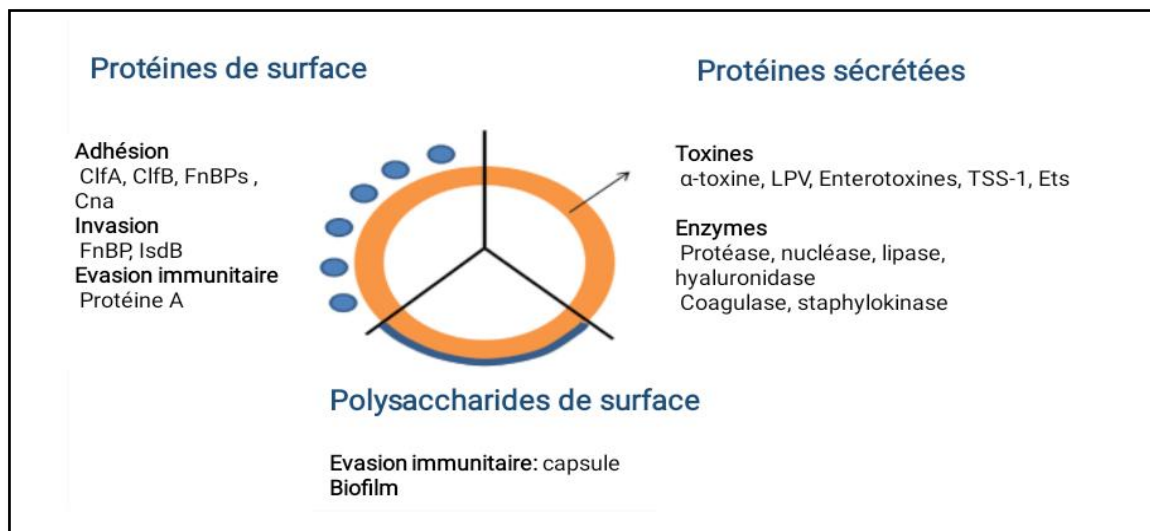


Figure 2. Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Foster et Geoghegan, 2015).

Parmi les facteurs de virulence, nous citons :

a. Acide teichoïque

Il est lié au peptidoglycane (*Wall Teichoic Acid* WTA) ou bien à la membrane cytoplasmique (*lipo teichoic acid* LTA). Les AT contribuent à l'adhésion et à la colonisation des staphylocoques, et jouent un rôle dans la division cellulaire et la formation de biofilms. De plus, les résidus de D-alanine sur les AT contribuent à la résistance aux peptides antimicrobiens cationiques tels que les défensines ou les cathélicidines, et aux antibiotiques glycopeptidiques tels que la vancomycine ou la teicoplanine (Mistretta et al., 2019).

b. Capsule

Les polysaccharides capsulaires ont permis la classification de *S. aureus* en 11 sérotypes. Les sérotypes 5 et 8 sont les principaux rencontrés en pathologie humaine. Elle inhibe la phagocytose et aide à l'adhérence (Becker, 2018).

c. Protéines de surface

Le staphylocoque possède de nombreuses protéines membranaires appelées MSCRAMM (*microbial surface components recognizing adhesive matrix molecule*), qui permettent une adhérence aux molécules plasmatiques (fibrinogène, fibronectine) ou tissulaires (collagène) et jouent un rôle primordial dans la colonisation des tissus et du matériel prothétique (Caby et al., 2010).

Les principales protéines de surface retrouvées chez *S. aureus* sont présentées dans le tableau II.

Tableau II. Protéines de surface exprimées par *S. aureus*.

Protéine	Fonction	Référence
Protéine A	Elle se lie au fragment Fc des Ig et inhibe l'opsonophagocytose, agit comme un super antigène et facilite l'adhésion.	Arumugam et al., 2017.
Protéines liant la fibronectine (fnBP A, fnBP B)	- Adhérence aux caillots plasmatiques et aux biomatériaux. - Formation de biofilm.	Foster, 2016.
Protéines liant le collagène (Cna)	- L'attachement au collagène (cartilage). - Infections osseuses et articulaires.	Herman-Bausier, 2016.
Protéine de liaison au fibrinogène : Clumping factor (ClfA, Clf B)	- Provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. - Infections des plaies et sur les corps étrangers.	Keenan et al., 2016.

d. Toxines

Les principales toxines produites par *S. aureus* sont résumées dans le tableau III.

Tableau III. Toxines sécrétées par *S. aureus*.

Toxine	Mode d'action / Infection	Référence
α - hémolysines (HLA)	Forme des pores à travers la membrane des cellules hôtes et provoque le choc septique staphylococcique.	Pontieri, 2018.
Leucocidine de Panton-Valentine (PVL)	Protéine ayant des propriétés leucotoxiques et dermonécrotiques à l'origine de pneumonie nécrosante.	Nawrotek et <i>al.</i> , 2018.
Entérotoxines A, B, D	Action super antigénique pour les lymphocytes T. Intoxication alimentaires collectives.	Hu et <i>al.</i> , 2018.
TSST-1	Dotée d'une activité super antigénique et provoque le choc toxique staphylococcique.	
Exfoliative toxins (Ets)	Responsables d'un clivage intra épidermique, provoque staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) de l'enfant.	Bukowski et <i>al.</i> , 2018.

e. Les enzymes

Les principales enzymes produites par *S. aureus* sont présentées dans le tableau IV.

Tableau IV. Enzymes produites par *S. aureus*.

Enzyme	Mode d'action	Référence
Coagulase libre	Conversion du fibrinogène en fibrine entraînant la formation de caillots de fibrine empêchant la phagocytose.	Becker, 2018.
Fibrinolysine ou staphylokinase	Protéine fibrinolytique qui active le plasminogène en plasmine.	
FAME	Modification des lipides antibactériens de l'hôte, constituer un facteur de virulence important dans les abcès.	Malachowa et Deleo, 2010.
Proteases, lipases, nucleases, hyaluronidase, phospholipase C, elastase.	Ces enzymes extracellulaires provoquent la destruction tissulaire et permet l'envahissement des tissus.	Arumugam et <i>al.</i> , 2017.

f. Le biofilm chez *S. aureus*

Les biofilms de *S. aureus* sont impliqués dans de multiples infections : ostéomyélites, infections sur implants médicaux, endocardites, infections oculaires ou encore parodonties (Archer *et al.*, 2011).

Le mode de vie sous forme de biofilm apporte plusieurs avantages à cette bactérie :

- Protection mécanique d'un certain nombre d'agression comme : le stress, les antibiotiques et la réponse immunitaire de l'hôte (100 à 1000 fois supérieure que la bactérie sous la forme planctonique) (Rózalska et Sadowska, 2018).
- Communication entre les cellules : tels que le quorum sensing et le transfert des éléments génétiques mobile qui permet l'acquisition de caractères de résistance et de facteurs de virulence (Sanchez et Lopez, 2018).

I.5. Pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus*

Selon Denis *et al.*, (2016), on peut classer les infections en deux groupes :

❖ **Infections suppuratives :**

- Infections de la peau et des tissus mous : ces infections peuvent être bénignes (folliculite, furoncle, panaris) ou sévères avec extension locorégionale (anthrax voire cellulite).
- Infections respiratoires : on différencie les pneumonies nécrosantes, souvent communautaires et des pneumopathies nosocomiales.
- Septicémies, souvent à porte d'entrée cutanée et favorisées par la présence d'une lésion ou de matériel de type cathéter.
- Staphylococcies viscérales à partir de bactériémies, avec des localisations ostéoarticulaires (arthrite, ostéomyélite), cardiaques (endocardites), pleuropulmonaires ou urogénitales.

- ❖ **Infections toxiques staphylococciques :** ce sont des infections où une toxine sécrétée par le staphylocoque est responsable de symptômes. (Voir section **I.4.d**).

I.6. Epidémiologie des SARM

Depuis leur apparition au début des années 1960, les SARM se sont rapidement disséminés dans le monde et sont devenues une cause majeure d'infections bactériennes. Cependant, il existe une variation géographique marquée de la charge des SARM en raison de plusieurs facteurs, notamment les différences entre les pratiques locales de contrôle des infections et les caractéristiques spécifiques des agents pathogènes (**Lee, 2018**).

En Europe, les proportions des SARM en 2008 étaient supérieures ou égales à 25% dans 10 pays européens (Norvège, Suède, Danemark, la Grèce, l'Italie, l'Irlande, la Roumanie, l'Espagne, la Turquie et le Royaume-Uni) avec un taux dépassant 50% à Malte et au Portugal (**Lee, 2018**). Une moindre prévalence de 10 à 24% a été observée en Belgique, en France et en Suisse, et moins de 5% aux Pays-Bas et dans les pays scandinaves où est appliquée une politique nationale rigide de prévention (**EARSS, 2008**).

Aux États-Unis, environ 53% des isolats cliniques de *S. aureus* étaient résistants à la méticilline en 2005. La prévalence des SARM estimée en 2009 était de 51% (**Lee, 2018 ; Falagas et al., 2013**).

Les SARM sont endémiques dans la plupart des hôpitaux en Asie. Leur prévalence dans certains pays asiatiques est parmi les plus élevées dans le monde. En 2011 sa prévalence était estimée de 41% au Japon, 46% en Chine, 59% aux Philippines et 28% en Indonésie. Au Pakistan, le taux était de 42% en 2006-2008 alors qu'en Inde deux études multicentriques ont montré une augmentation du taux des SARM de 41% à 45%, respectivement, en 2008-2009 et 2011 (**Chen et Huang, 2014**).

Dans les pays du Nord de l'Afrique, la prévalence des SARM est passée de 16% à 41% en Tunisie entre 2002-2007, de 19% au Maroc entre 2006 et 2008 et de 52% en Égypte entre 2003 et 2005 (**Falagas et al., 2013**).

En Algérie, le taux des SARM était de 4,5% en 2002 puis 33,2% en 2004 et 45% en 2006 (**Rebiahi et al., 2011**). Actuellement et selon le Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (**2016**), le taux des SARM a baissé à environ 5% en 2011 et est suivie d'une augmentation à environ 42,93% en 2014.

II. ENVIRONNEMENT HOSPITALIER ET INFECTION NOSOCOMIALE

On regroupe habituellement sous le terme d'environnement hospitalier, les éléments suivants : air, eau, surfaces (sols, murs, mobilier, équipement), linge, aliments, dispositifs médicaux, déchets. Ces éléments supportent de nombreux micro-organismes, cette contamination environnementale est très variable qualitativement et quantitativement d'un établissement à un autre et au sein d'un même établissement en fonction des services, des patients (sains, colonisés, infectés), des soins et des techniques pratiqués. L'hôpital peut devenir dans certaines circonstances, une source d'infection nosocomiale (**Haddad, 2005 ; Ghernaout, 2013**).

II.1. Définition d'infection nosocomiale

Au sens étymologique du terme, le mot « *nosocomium* » signifie hôpital en latin, une infection nosocomiale est une infection contractée lors d'un séjour en milieu hospitalier (**Gachot et Coriat, 2019**).

Le caractère nosocomial des infections hospitalières se définit pour toute infection mise en évidence à l'hôpital et qui n'était ni présente, ni en incubation à l'admission du patient. Le délai est variable suivant l'agent pathogène. Lorsque l'état infectieux au début de la prise en charge n'est pas connu précisément, un délai d'au moins 48h ou un délai supérieur à la période est couramment accepté pour définir une infection nosocomiale (**Tricoire, 2016 ; Gachot et Coriat, 2019**).

II.2. Principales infections nosocomiales

Les infections nosocomiales sont nombreuses et polymorphes, tant par leur localisation que par leur gravité. Selon **Trivalle (2016)**, d'une façon globale, la fréquence respective des infections nosocomiales est la suivante :

- Infections des voies urinaires (IU) : 47%.
- Infections respiratoires : 25%.
- Infection de la peau : 14 %.
- Bactériémies et septicémies : 14 %.

II.3. Zones à risque à l'hôpital

Les locaux hospitaliers sont classés selon le risque infectieux en 4 types de zones (Tableau V).

Tableau V. Zones à risque à l'hôpital.

Zone 1 risque faible	Services administratifs, salles de réunion et de formation, restaurant du personnel, internats, halls, bureaux, escaliers, sanitaires, services techniques et logistiques (y compris réserves), locaux d'archivage.
Zone 2 risque modéré	Psychiatrie, salles d'attente, salles à manger, salles de détente consultation, chambre de garde, offices alimentaires, stérilisation centrale, pharmacie, blanchisserie, vestiaires.
Zone 3 haut risque	Réanimation, urgences, salles d'accouchement, médecine, chirurgie maternité, imagerie médicale, endoscopie, nurserie, biberonnerie, salles de soins, salle d'autopsie.
Zone 4 très haut risque	Bloc opératoire, bloc obstétrical, bloc d'imagerie, unité de greffe d'organes et de moelle osseuse, service des grands brûlés.

(Galy et Verdeil, 2017).

II.4. Agents causals

Les infections nosocomiales sont généralement dues à des bactéries. Les bacilles à Gram négatif représentent 60% des germes rencontrés. Les cocci à Gram-positif représentent 30%, dont lesquels *E. coli* est majoritairement impliquée (23,5%), suivie par *Staphylococcus aureus* (13%), *Enterococcus faecalis* (6,5%), et en quatrième rang on retrouve *Pseudomonas aeruginosa* (6,2%). Par ailleurs, les virus, les protozoaires et les champignons sont rarement impliqués (Thiolet et al., 2013 ; Daniau et al., 2017).

II.5. Mode de transmission

- **Infections d'origine « endogène »** : les sites normalement stériles sont contaminés par la flore dont le porteur est le patient, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'un déséquilibre entre le système immunitaire de l'hôte et la virulence du pathogène.
- **Infections d'origine « exogène »** : les micro-organismes ont pour origine les autres malades (transmission croisée entre malades, par les mains du personnel ou par les dispositifs médicaux), les germes du personnel porteur ou la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, équipement etc.) (Bouvier-Slekovec, 2013).

III. RESISTANCE DE *S. aureus* AUX ANTIBIOTIQUES

III.1. Définition d'un antibiotique

Un antibiotique est une substance capable d'inhiber la croissance de la bactérie (effet bactériostatique) ou de tuer la bactérie (effet bactéricide). Cette substance peut être chimique naturelle, synthétique, ou semi synthétique ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des ATB sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons (**Kohanski et al, 2010 ; Elliott et al, 2011**).

Nous disposons aujourd'hui d'une panoplie assez large d'ATB permettant de trouver le produit adapté à chaque type d'infection et à chaque patient. Les principaux types d'ATB sont classés en plusieurs familles, les bêtalactamines (pénicilline, céphalosporine et autres), les tétracyclines, les aminosides, les MAC et apparentés, les FQ, les ATB glycopeptidiques, les sulfamides et les ATB divers (acide fusidique, fosfomycine, thiamphénicol, polymyxine ,linézolide , rifampicine...) (**Buxeraud, 2014**).

III.2. Définition de la résistance

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique si la concentration minimale de cet antibiotique capable d'inhiber sa croissance est supérieure aux concentrations obtenues dans le sérum d'un malade traité à doses standards par cet antibiotique. On distingue deux sortes de résistances : la résistance naturelle et la résistance acquise.

- **La résistance naturelle**, ou résistance intrinsèque, est celle que développe un agent infectieux contre un médicament donné sans jamais avoir été en contact avec celui-ci. Elle concerne toutes les souches d'une même espèce et constitue une caractéristique génétique de cette espèce.
- **La résistance acquise**, est la résistance développée par un agent infectieux contre un médicament auquel il était auparavant sensible. Elle ne touche que certaines souches au sein d'une espèce normalement sensible au médicament concerné. Elle peut être due à une mutation ou être le fait de l'acquisition par l'agent infectieux de matériel génétique facultatif (plasmides, transposons) (**Larousse médical, 2006**).

III.3. Résistance aux bêta-lactamines

a. Mécanismes d'action des bêta-lactamines

Les bêta-lactamines ont pour cibles « les transpeptidases » appelées aussi « protéines liant la pénicilline » (PLP) impliquées dans la formation du peptidoglycane. La fixation des

bêta-lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane rendant la paroi bactérienne instable et fragile et provoquant secondairement la lyse de la bactérie par synthèse d'autolysines conduisant à sa mort (les bêta-lactamines sont donc bactéricides) (Ghernaout, 2013).

b. Résistance à la pénicilline

L'émergence et la propagation de la résistance médiée par la pénicillinase chez *S. aureus* sont appelées la première vague de résistance. Le taux de résistance à la pénicilline dépasse maintenant 90% des isolats humains de *S. aureus*, ce qui rend l'utilisation de la pénicilline essentiellement inutile dans le traitement de ses infections (Peacock et Paterson, 2015). Le mécanisme de résistance à la pénicilline est médié par le gène plasmidique blaZ, qui code pour la production d'une enzyme de β -lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle β -lactame de la pénicilline et la rend inactive (Arumugam et al., 2017).

III.4. Résistance à la méticilline chez *S. aureus* (SARM)

❖ Résistance par modification de la cible (le principal mécanisme de résistance)

Il s'agit d'une résistance acquise par modification de la cible principale de nombreuses β -lactamines. *S. aureus* produit naturellement 4 PLP, les SARM synthétisent une 5^{ème} PLP : la PLP2a, ayant une très faible affinité pour les β -lactamines et confère une résistance à la méticilline et à toutes les β -lactamines (Ghernaout, 2013 ; Pantosti, 2012).

Les antibiotiques bêta-lactamines exercent leur activité antibactérienne en inactivant les protéines de liaison à la pénicilline (PLP), qui sont des enzymes essentielles pour la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne. Cependant, ces antibiotiques n'ayant qu'une affinité réduite pour la PLP2a, cette enzyme échappe à l'inactivation et joue le rôle de PLP essentiels entraînant la synthèse de la paroi cellulaire et la survie des bactéries, même en présence d'antibiotiques bêta-lactamines. Cependant la paroi bactérienne synthétisée par la PLP2a comporte des altérations morphologiques (diminution du degré de réticulation, prédominance de monomères ou dimères) qui ne sont pas favorables à la bonne croissance de la bactérie (Arumugam et al., 2017 ; Ghernaout, 2013).

Les SARM sont les souches de *S. aureus* portant le gène *mecA*, qui code pour la protéine supplémentaire liant la pénicilline (PLP2a), ce gène est porté par un élément génétique mobile de 21 à 60 kb. Appelé chromosome mec de la cassette staphylococcique (SCCmec)

(*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*) inséré dans un locus spécifique (site unique, proche de l'origine de réplication du chromosome de *S. aureus*) (Arumugam et al., 2017).

D'après Foster (2017), la résistance à la méticilline est exprimée en fonction des souches :

- ✓ Résistance homogène : tous les isolats d'une même souche expriment un niveau élevé de résistance à la méticilline.
- ✓ Résistance hétérogène : Dans une culture dérivée d'une seule colonie, la majorité des cellules expriment un faible niveau de résistance alors que seule une minorité exprime une résistance à un niveau élevé.

❖ Résistance par d'autres mécanismes

Selon Peacock et Paterson (2015), les souches de *S. aureus* qui ont des CMI d'oxacilline légèrement supérieures à la limite permettant de différencier les souches résistantes des souches sensibles, sont dépourvues du gène *mecA*. Cette résistance est due à :

- Une activité accrue de la β -lactamase chez les souches BORSA (Borderline Oxacillin Resistant *S. aureus*) sont appelées ainsi car elles présentent une faible résistance à l'oxacilline.
- Des modifications des PLP de *S. aureus* par diverses mutations ponctuelles chez des souches ne produisant pas de bêta-lactamase : MODSA (Modified *S. aureus*). Ce mécanisme est rare et le niveau de résistance est faible par rapport à celui de SARM *mecA*.

III.5. Résistances aux autres familles d'antibiotiques :

Le tableau suivant montre la résistance de cette bactérie vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques.

Tableau VI. Résistance de *S. aureus* aux autres familles d'antibiotiques.

Antibiotique	Mécanisme d'action	Mécanisme de résistance
Aminosides	Inhibition de la synthèse protéique	Production des enzymes inactivatrices (phospho, adényl, acetyl-transferase).
Acide fusidique	Inhibition de la synthèse protéique	Diminution de la perméabilité et de l'affinité entre le facteur d'élongation et l'antibiotique.
Rifampicine	Inhibition de la transcription	Mutations du gène codant pour la sous-unité β de l'ARN polymérase.
Glycopeptides	Inhibition de la synthèse de la paroi	<ul style="list-style-type: none"> - Epaississement de la paroi qui piège les glycopeptides chez les souches GISA ou VISA. - Synthèse d'une nouvelle cible de faible affinité (D-ala-D-lactate) chez les souches VRSA.
MLSb	Inhibition de la synthèse protéique	<ul style="list-style-type: none"> - Modification de la cible ribosomale par méthylation. - Mécanisme d'efflux. - Inactivation enzymatique.
Quinolones	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	<ul style="list-style-type: none"> - Modification de la cible (topo-isomérases II et IV). - Mécanisme d'efflux.
Tétracycline	Inhibe la synthèse protéique	<ul style="list-style-type: none"> - Mécanisme d'efflux. - Protection de la cible ribosomale.
Chloramphénicol	Inhibe la synthèse protéique	<ul style="list-style-type: none"> - Mécanismes d'efflux. - Enzyme inactivatrice : chloramphénicol acétyltransferase.
Cortimoxazol	Inhibition de la synthèse des acides nucléique	L'hyperproduction des enzymes cibles (DHPS ou de DHFR).
Fosfomycine	Inhibition de la synthèse du peptidoglycane	<ul style="list-style-type: none"> - Mutation au niveau du système de transport. - La production d'une protéine FosB qui hydrolyse le noyau époxyde.

(Foster, 2017).

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

I. MATERIEL ET METHODES

Dans le but d'isoler et identifier *S. aureus* résistant à la méticilline impliqués dans les infections nosocomiales et caractériser leurs phénotypes de résistance, des prélèvements ont été réalisés à partir de divers sites de l'environnement hospitalier, dans différents services (réanimation et chirurgie générale) de l'établissement public hospitalier (EPH) de Boufarik.

Notre étude s'est étalée sur une période de quatre mois, (allant du mois de février jusqu'au mois de Mai 2019).

L'analyse microbiologique des différents échantillons prélevés a été réalisée au niveau de l'unité de microbiologie du laboratoire d'Hygiène de la wilaya de BLIDA.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

Il est constitué du plasma humain utilisé pour le test de coagulase ainsi que les souches de référence (ATCC : American Type Culture Collection) utilisées pour valider les différents tests effectués.

Tableau VII. Souches de référence utilisées

Souches	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline	ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline	ATCC 43300

I.1.2. Matériel non biologique

Il est constitué d'appareillage, de verrerie, de milieux de culture, de colorants, de réactifs et de disques d'antibiotique. (**Voir Annexe A**).

I.2. Méthodes

Pour l'isolement et l'identification de *S. aureus*, nous avons suivi les étapes suivantes résumés dans la **Figure 3**.

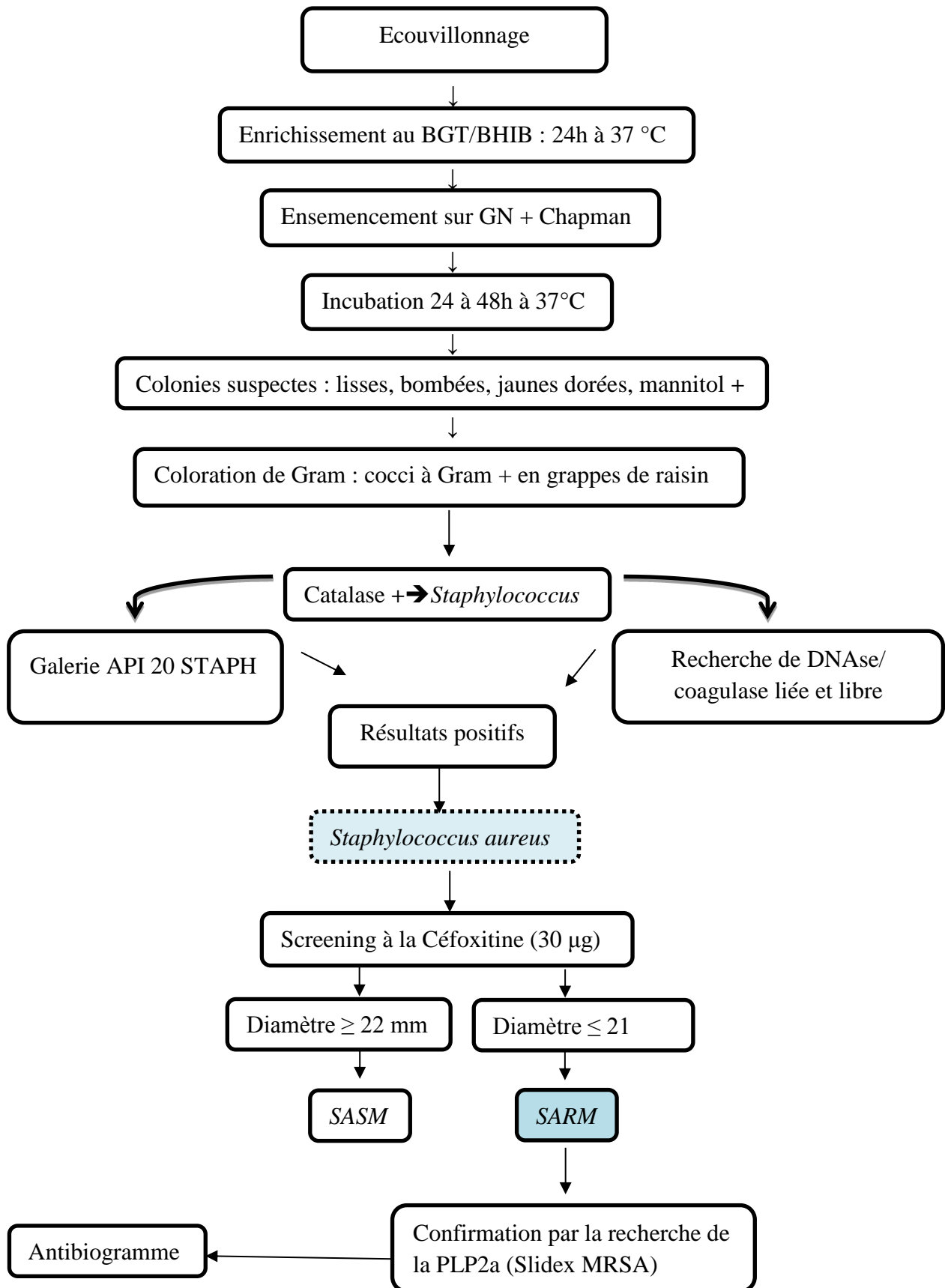


Figure 3. Organigramme de l'identification de *Staphylococcus aureus*.

I.2.1. Prélèvements

250 échantillons ont été prélevés le matin à partir de différents sites environnementaux, des surfaces sèches (tables de soins, tables, lits, oreillers, draps, poignées de porte) des surfaces humides (lavabos, siphons). (Tableau VIII).

Tableau VIII. Différents sites et nombres de prélèvements.

Site	N° Chirurgie	N° Réanimation
Lits, oreillers, draps	75	27
Poignées de porte	36	27
Table, table de soins	41	16
Lavabos, siphons	18	10
Total	170	80

Nous avons utilisé la méthode d'écouvillonnage qui consiste à frotter sur la surface sèche à analyser, l'extrémité cotonnée de l'écouvillon préalablement humidifiée à l'aide d'eau physiologique. Si la surface à analyser est humide, il suffit de frotter directement sans l'utilisation de l'eau physiologique. Les échantillons ainsi prélevés ont été rapidement transportés au laboratoire de microbiologie.

I.2.2. Mise en culture

Chaque prélèvement (écouvillon) réalisé est enrichi dans un bouillon nutritif et incubé à 37°C pendant 24 heures. Les prélèvements étaient ensuiteensemencés sur gélose nutritive (GN) et sur milieu Chapman par la méthode des quatre quadrants, puis incubés à 37°C pendant 24 à 48h.

I.2.3. Identification de *Staphylococcus aureus*

I.2.3.1. Examen macroscopique

Après incubation, toute colonie pigmentée en jaune dorée, lisse, bombée et plus ou moins grosse, dégradant le mannitol sur milieu Chapman, était suspectée d'être *Staphylococcus aureus* (Denis *et al.*, 2016)

I.2.3.2. Examen microscopique : coloration de Gram

Un frottis est réalisé à partir d'une colonie bactérienne et coloré au Gram. (**Annexe C**)

I.2.3.3. Purification

La purification consiste à repiquer une colonie sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement.

I.2.3.4. Identification biochimique

✓ *Test de la catalase*

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène «H₂O₂» (dont l'action est létale pour les bactéries) selon la réaction suivante :



✓ *Technique*

On dépose sur une lame propre et sèche de l'eau oxygénée à 10 volumes, puis on met des colonies bactériennes prélevées d'un milieu solide.

✓ *Lecture*

La présence de bulles d'oxygène témoigne de la présence de l'enzyme (catalase positive) (**Denis et al., 2016**).

• *Test de coagulase libre*

Selon **Denis et al., (2016)**, ce test consiste à mettre en évidence l'aptitude des bactéries à coaguler le plasma en libérant la coagulase dans le milieu extérieur.

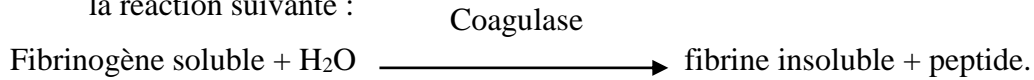
✓ *Téchnique*

- Dans un tube à hémolyse, on mélange 0,5 ml de plasma humain et 0,5 ml d'une culture de 18 heures en bouillon nutritif.
- Dans un deuxième tube, la même procédure est réalisée avec la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923 pour un contrôle positif.
- Un troisième tube contenant le plasma uniquement servira de contrôle négatif.

Les 3 tubes ont été placés dans l'étuve à 37 °C et incubés pendant 24 heures.

✓ **Lecture**

- Si le plasma coagule (pas d'écoulement) au moins au bout de 24 heures, le germe possède une coagulase. Le fibrinogène a été transformé en fibrine : *S. aureus*. Selon la réaction suivante :



- Si le plasma n'est pas coagulé, espèce autre que *S. aureus*.

I.2.3.5. Test d'agglutination par PASTOREX® STAPH-PLUS

C'est un test rapide d'agglutination sur plaque pour la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène « clumping factor », de la protéine A et des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

✓ **Technique**

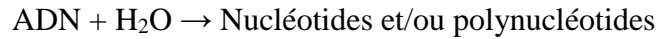
- Bien homogénéiser les réactifs latex.
- Déposer une goutte de réactif latex test dans un des cercles de la carte d'agglutination.
- Déposer une goutte de réactif latex témoin négatif sur un autre cercle.
- Prélever une à trois colonies de cocci Gram-positif, catalase⁺ avec un bâtonnet en plastique, puis les émulsionner avec une goutte de latex pendant 10 secondes.
- Procéder de la même façon pour le réactif latex témoin négatif.
- Homogénéiser en effectuant un mouvement rotatif de la carte.
- La lecture doit se faire pendant les 30 secondes qui suivent le début des mouvements rotatifs de la carte.

✓ **Lecture**

- La réaction est positive lorsqu'il y a formation d'agrégats uniquement avec le latex test, visibles à l'œil nu sous éclairage normal, en moins de 30 secondes. Il s'agit donc de *S. aureus*.
- La réaction est négative dans le cas où la suspension ne présente pas d'agrégats et garde son aspect laiteux.
- Un résultat non interprétable est donné dans le cas d'une agglutination du réactif contrôle négatif (**BioRad**).

I.2.3.6. Recherche d'une DNase (Désoxyribonucléase)

Selon **Denis et al., (2016)**, certaines bactéries sont capables d'hydrolyser l'acide désoxyribonucléique grâce à une enzyme : la DNase. La mise en évidence chez *Staphylococcus* d'une DNase thermostable suffit à l'identification de l'espèce *S. aureus*. La réaction catalysée est la suivante :



✓ **Technique à l'acide chlorhydrique**

Les bactéries sont ensemencées en réalisant une strie large à la surface de la gélose à ADN. Il est possible d'étudier simultanément 4 ou 5 souches différentes sur une même boîte de Pétri. Il faut ensuite incuber à 37°C jusqu'à l'obtention d'une culture suffisante, en générale le temps est 24h. Après l'incubation, inonder la surface du milieu avec quelques millilitres d'HCl et ré-aspirer l'excès. Attendre 10 à 15 min.

✓ **Lecture :**

La lecture se fait sur un fond noir. Lorsque l'ADN est hydrolysé, un halo clair est visible au pourtour de la strie, alors que l'ADN sous l'action de l'HCL est à l'origine d'un précipité blanchâtre.

I.3.7. Galerie API 20 STAPH

De nombreux dispositifs d'identification prêts à l'emploi sont proposés et fournissent des résultats fiables. Parmi ces systèmes la galerie API STAPH qui comporte 20 micro-tubes de substrats déshydratés permettant la différenciation de l'espèce *S. aureus* des autres espèces du genre *Staphylococcus*.

✓ **Technique :**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Un inoculum bactérien d'opacité égale à 0,5 Mc Farland est préparé avec de l'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure de 18 heures.
- À l'aide d'une pipette rempli d'eau physiologique stérile ensemencée dans les tubes de la galerie à l'exception des cupules sans pour autant dépasser le niveau des tubes.
- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et URE en remplissant leurs cupules d'huile de paraffine ensuite renfermer la boîte et incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

✓ **Lecture :**

Après incubation, on ajoute pour les cupules VP, PAL et NR les réactifs (VP 1, VP 2/ZYM A, ZYM B/ NR 1, NR 2). La lecture des galeries API STAPH se fait selon les indications du fournisseur, après codification des réactions en un profil numérique, on se réfère à un catalogue analytique (**Annexe D**) (**BioMérieux**).

I.2.4. Détection des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline

I.2.4.1. Screening par le disque de céfoxitine

Selon **Denis et al., (2016)**, la recherche de la méticillino-résistance s'effectue à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg) par la méthode de diffusion, dans les conditions standard de l'antibiogramme

✓ **Technique :**

A partir d'une culture de 18 à 24 heures sur milieu de gélose approprié, une suspension à 0,5 McFarland en solution saline (0,9 % NaCl) est préparée. La suspension est ensemencée par écouvillonnage sur gélose Mueller-Hinton sans NaCl, le disque de céfoxitine (30µg) est ensuite déposé sur la gélose. La lecture doit être réalisée après incubation à 35°C pendant 24h en respectant les règles édictées par le CA-SFM/EUCAST.

✓ **Lecture :**

Les souches de *S. aureus* présentant un diamètre supérieur ou égal à 22 mm sont sensibles, celles ayant un diamètre strictement inférieures à 22 mm sont résistantes.

I.2.4.1. Recherche de la PLP2a

Ce test permet de rechercher les PLP2a (Protéines Liants la Pénicilline de faible affinité) afin de détecter la résistance à la méticilline à partir de souches de *S. aureus*. Cette protéine peut être recherchée par des techniques d'agglutination avec des particules de latex sensibilisées avec un anticorps monoclonal contre les PLP2a, qui vont réagir spécifiquement avec les SARM et provoquer une agglutination visible à l'œil nu. Le latex PLP2a a l'avantage d'être une méthode directe et rapide de détection de la protéine PLP2a avec un temps de manipulation réduit (**Denis et al., 2016**).

✓ **Extraction des PLP2a**

- Ajouter 4 gouttes de réactif d'extraction 1 dans un microtube
- Prélever plusieurs colonies de la souche à tester à l'aide d'un bâtonnet en plastique
- Mettre en suspension les colonies dans le microtube

- Vortexer si des agrégats sont visibles (la suspension doit être très trouble)
- Placer le microtube dans un bain-marie à 100 °C pendant 3 min
- Sortir le microtube et le laisser revenir à température ambiante
- Ajouter une goutte de réactif d'extraction 2 dans le tube et bien mélanger
- Centrifuger à 1500 rpm pendant 5 min.

✓ **Agglutination**

- Pour chaque surnageant à tester, identifier un cercle de la carte de réaction pour le latex test et un autre cercle pour le latex de contrôle
- Bien mélanger les latex en retournant les flacons plusieurs fois et déposer une goutte de latex test ou de latex contrôle dans chaque cercle
- Déposer 50ul de surnageant sur le cercle test et le cercle contrôle en évitant de toucher le culot. Bien mélanger le latex et le surnageant dans chaque cercle avec un stick
- Imprimer un mouvement de rotation à la carte pendant 3 minutes et observer l'agglutination dans des conditions de lumière normale

✓ **Lecture et interprétation des résultats**

- Agglutination avec le latex test, mais pas avec le latex de contrôle en 3 minutes c'est-à-dire la souche à tester est **PLP2a** + donc considérée comme SARM.
- Pas d'agglutination avec le latex test et le latex de contrôle en 3 minutes, c'est-à-dire la souche à tester est **PLP2a** - donc considérée comme SASM.
- Agglutination avec le latex de contrôle en 3 minutes, résultat non interprétable.
- Procéder de la même manière avec le contrôle positif : une souche SARM connue (ATCC 43300) et avec le contrôle négatif : une souche SASM connue (ATCC 25923), utilisées pour valider les résultats (**Oxoid**).

I.2.5. Antibiogramme des SARM par la méthode de diffusion sur milieu solide

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion s'effectue sur gélose Mueller-Hinton en atmosphère aérobie. La lecture doit être réalisée en respectant les recommandations du CA-SFM/EUCAST 2016 (**Denis et al., 2016**).

✓ **Technique**

- ❖ A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu solide, prélever 2 à 3 colonies bien isolées, de même morphologie et les décharger dans 5 ml d'eau physiologique stérile à

(0,9 % NaCl) puis homogénéiser la suspension à l'aide d'un vortex et ajuster son opacité à 0,5 MF à l'aide d'un densitomètre.

- ❖ Plonger l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et essorer-le sur les parois internes du tube.
- ❖ Ensemencer la totalité de la surface de la gélose, en frottant l'écouvillon sur la surface en stries serrées.
- ❖ Répéter l'opération 2 fois en tournant la boîte 60°, et en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même (pour assurer une bonne distribution de l'inoculum).
- ❖ Passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ❖ Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile à une distance de 30 mm les uns des autres.
- ❖ Incubation à 37°C pendant 18 à 24h.

Les différents antibiotiques utilisés et la charge des disques sont illustrés dans le tableau IX.

Tableau IX. Différents antibiotiques testés avec la charge des disques.

Famille	Antibiotique testé	Abréviation	Charge du disque
Béta-Lactamines	Céfoxitine	FOX	30µg
	Pénicilline	P	10 UI
Aminosides	Gentamicine	GMN	10µg
	Amikacine	AMK	30µg
	Kanamycine	KMN	30µg
	Tobramycine	TOB	10µg
Macrolides	Erythromycine	E	15µg
	Clindamycine	CMN	2µg
	Pristinamycine	PTN	15µg
Quinolones	Ofloxacine	OFX	5µg
	Ciprofloxacine	CIP	5µg
	Levofloxacine	LVX	5µg
Glycopeptides	Vancomycine	Van	30µg
Autres	Cotrimoxazol	SXT	1,25/23,75µg
	Tétracyclines	TET	30µg
	Acide fusidique	FAD	10µg
	Rifampicine	RIF	5µg

✓ *Lecture*

On mesure les diamètres des zones d'inhibition obtenues pour chaque disque d'antibiotique et on les compare aux diamètres critiques (**voir annexe E**), puis la bactérie est classée dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

I.2.5.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la vancomycine par la technique de dilution sur milieu gélosé

Cette technique consiste à déposer des suspensions bactériennes calibrées sur des milieux contenant des concentrations croissantes d'antibiotique. La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber la croissance bactérienne (**CA-SFM/EUCAST 2016**).

✓ *Technique*

a) Préparation des boîtes de dilutions d'antibiotique

- Diluer 51,20 mg de poudre de l'antibiotique à tester dans 10 ml de solvant approprié pour obtenir une concentration de 5120 µg/ml (solution-mère).
- Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de raison de deux dans le solvant approprié jusqu'à la concentration de 1,25 µg/ml.
- Répartir 2 ml de chaque dilution d'antibiotique dans la boîte correspondante en procédant de la plus faible concentration à la plus forte concentration.
- Compléter chaque boîte avec 18 ml de milieu Mueller-Hinton liquéfié et homogénéiser délicatement, sans faire de bulle, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires.
- La dilution obtenue (1/10ème) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml. La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées.
- Préparer une boîte témoin sans antibiotique en remplaçant le volume d'antibiotique par le même volume d'eau physiologique stérile.
- Après solidification, sécher les boîtes, couvercle en place, pendant 30 mn.

b) Préparation de l'inoculum bactérien

- Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF, ce qui correspond à 10^8 UFC/ml et utiliser l'eau physiologique à 0,9 % pour la préparation de la suspension directe à partir d'une culture jeune de la bactérie à tester.

- Déposer sous forme de spots à la surface de la gélose, 2 μ l soit 10^4 UFC par spots de 5 à 8 mm.

c) Incubation

- Laisser les boîtes à température ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots, pas plus de 30 mn).
- Renverser les boîtes et incuber à 37°C pendant 16 à 20 heures.

d) Lecture des CMI

- Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive.
- Noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible).
- Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

I.2.6 Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisé par le test de Khi deux pour comparer les pourcentages entre le service de chirurgie et le service de réanimation.

Les hypothèses :

H_0 : Pas de différence entre le service de chirurgie et de réanimation.

H_1 : Il y'a une différence entre le service de chirurgie et de réanimation.

Résultats et discussion

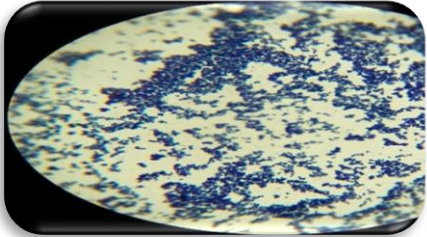

II. RESULTATS ET DISCUSSION

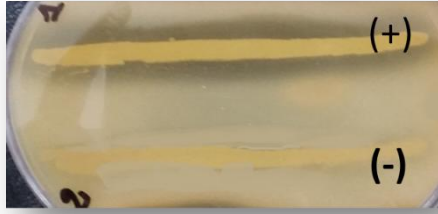




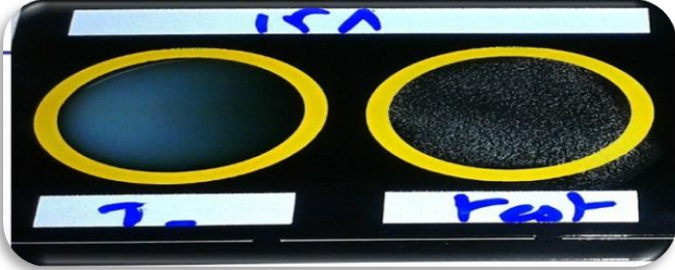
Cette étude a permis d'analyser 250 échantillons prélevés de l'environnement à partir des salles de réanimation et des salles du service de chirurgie de l'hôpital de Boufarik, durant une période allant du mois de Février jusqu'au mois de Mai 2019.

II.1. Résultats des tests d'identification de *S. aureus* et de la recherche des SARM

Après culture, isolement et identification, nous avons obtenu les résultats suivants :

Tableau X. Résultats de l'identification des isolats.

Méthodes	Résultats : Photos (Originale)
<p>Culture</p> <p>Aspect de <i>S. aureus</i> sur GN et Chapman. Colonie pigmentée en jaune dorée, lisse, bombée et plus ou moins grosse, dégradant le mannitol sur milieu Chapman.</p>	
<p>Coloration de Gram</p> <p>Aspect de <i>S. aureus</i> après coloration de Gram (G 10x100). Des cocci de couleur violette, en diplocoque ou en grappe de raisin.</p>	
<p>Test de la catalase</p> <p>Apparition de bulles d'oxygène.</p>	
<p>Test de la coagulase</p> <p>Formation d'un caillot.</p>	

<p>Test de DNase</p> <p>Un halo clair est visible au pourtour de la strie.</p>	
<p>Agglutination par Pastorex® staph plus</p> <p>Formation d'agrégats en moins de 30 secondes.</p>	
<p>Galerie API 20 STAPH</p>	
<p>Recherche de la résistance à la méticilline par le disque de céfoxitine</p> <p>Les souches ayant un diamètre strictement inférieures à 22 mm sont résistantes.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Résistante</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Sensible</p> </div> </div>
<p>Recherche de la PLP_{2a}</p> <p>Agglutination avec le latex test en 3 minutes.</p>	

II.2. Taux de positivité selon l'échantillonnage

Les résultats obtenus, montrent que sur les 250 prélèvements effectués, 157 sont positifs, soit un taux de 62,8%. Les 93 (37,2%) prélèvements restants, se sont révélés négatifs.

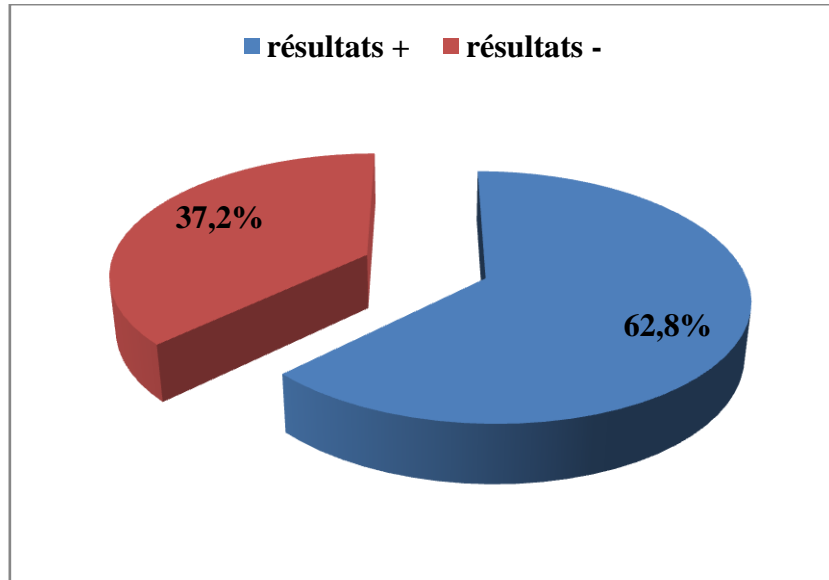


Figure 4. Répartition des résultats des différents prélèvements effectués.

Ce taux obtenu est beaucoup plus élevé par rapport à l'étude faite par **Kais en 2011** dans le même hôpital et qui a montré que la fréquence était de 31,4%.

II.3. Type de culture bactérienne

D'après les résultats obtenus sur la figure 5, on remarque que la plupart des cultures sont mono-bactériennes soit un taux de 55,41% et 44,59% des cultures sont poly-bactérienne.

Par contre, le nombre de culture poly-bactérienne (38,22%) dans les salles de chirurgie est beaucoup plus important par rapport aux salles de réanimation qui est de 6,37%.

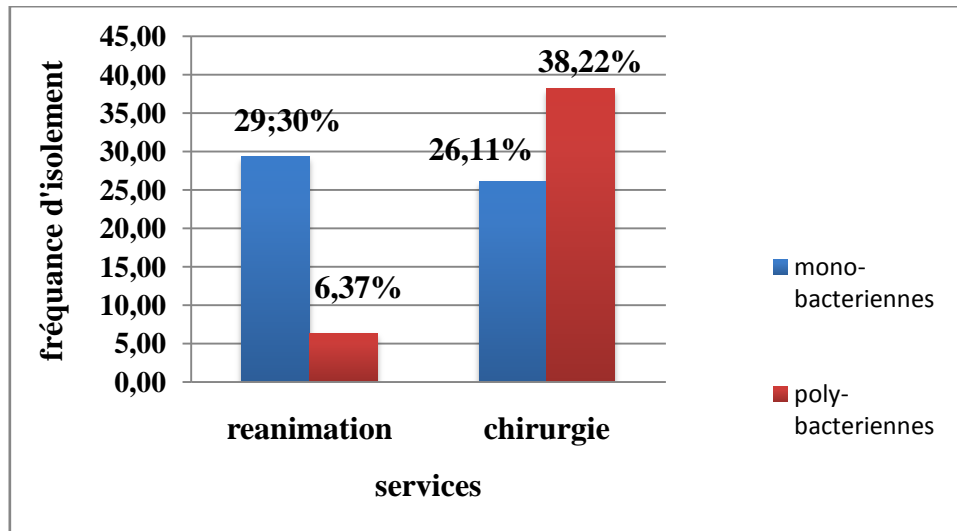


Figure 5. Représentation des résultats selon le type de culture bactérienne.

Les différents types de cultures qu’elles soient mono ou poly-bactérienne ainsi que leur fréquence aux différents sites de prélèvements sont mentionnés dans le Tableau suivant :

Tableau XI. Fréquence des types de cultures bactérienne aux différents sites de prélèvement.

	Sites de prélèvement	% de la culture mono-bactérienne	% de la culture poly-bactérienne
Salles de réanimation	Lits	12,74%	2,55%
	Poignées de porte	6,37%	1,27%
	Tables	6,37%	0,64%
	Surfaces humides	3,82%	1,91%
	Total : 29,30%	Total : 6,37%	
Chirurgie	Lits	07,01%	15,92%
	Poignées de porte	6,37%	6,37%
	Tables	6,37%	11,46%
	Surfaces humides	6,37%	4,46%
	Total :26,11%	Total :38,22%	

Le type de culture bactérienne qui domine au niveau des salles de réanimation est le mono-bactérien. Par contre, au niveau des salles de chirurgie, c’est le type de culture poly-bactérien qui domine.

Ces cultures peuvent être l'association des germes de l'environnement avec des germes pathogènes ou uniquement des germes de l'environnement et /ou des germes pathogènes.

II.4. Taux de *Staphylococcus aureus* par rapport aux autres germes

Sur les 157 prélèvements positifs, 110 souches appartiennent au genre *Staphylococcus*, soit une fréquence de près de 70%. Les résultats consignés dans le Tableau XII montrent que le taux de *S. aureus* par rapport aux autres germes est de 29,94%. Ceci est en parfait accord avec l'étude de **Saouide El Ayne et al., (2014)** à l'hôpital El Idrissi au Maroc qui montre un taux de 25%. Par contre les résultats obtenus dans cette étude sont nettement supérieurs au taux de (10%) retrouvé par **Teggar (2013)** au CHU d'Alger.

Tableau XII. Répartition de *S. aureus* par rapport aux autres germes.

Espèce	Cette étude	Autres études	
<i>Staphylococcus aureus</i>	47 (29,94%)	13(25%)	109 (10 %)
SCN	63 (40,12%)	15(27%)	98 (8,94%)
Autres bactéries	47(29,94%)	42(48%)	886(81,06%)
		Saouide El Ayne et al., (2014)	Teggar (2013)

II.5. Prévalence globale de *S. aureus* dans l'environnement hospitalier

Sur un total de 157 prélèvements, les *Staphylococcus aureus* ont été isolés dans 29,94% des prélèvements (n=47), 17,20% (n=27) sont des *S. aureus* sensibles à la méticilline (SASM) et 12,74% (n=20) sont des *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM). (Figure 6).

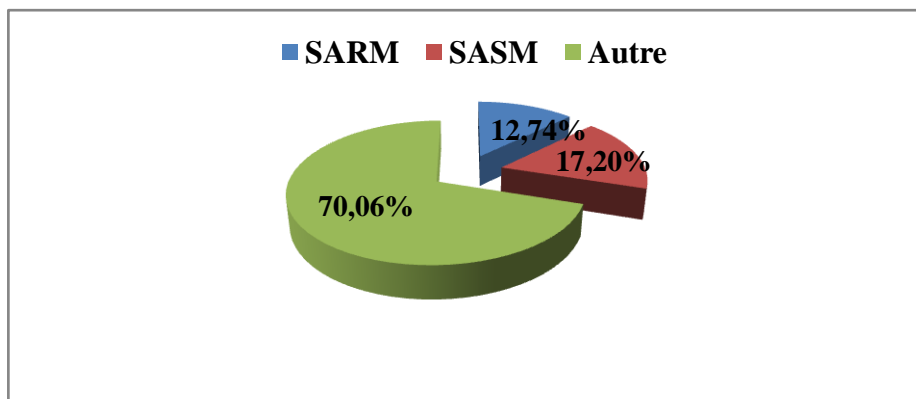


Figure 6. Prévalence globale de *S. aureus* dans l'environnement hospitalier.

Dans l'environnement hospitalier, le taux des SARM était de 12,74%, ces données se rapprochent des résultats obtenus par **El Anzi (2014)** au CHU Ibn Sina de Rabat qui avait rapporté un taux de 10%. Par contre, ce taux est supérieur à celui trouvé par **Merzougui et al., (2018)** au CHU Ibn El Jazzar de Kairouan, qui était à 7%.

II.5.1. Répartition de *S. aureus* selon les services

La figure 7 montre une répartition différentielle des résultats de *Staphylococcus aureus*. Le service le plus contaminé est le service de chirurgie avec un taux de 36,63% (n=37) suivie par le service de réanimation avec un taux de 17,86% (n=10).

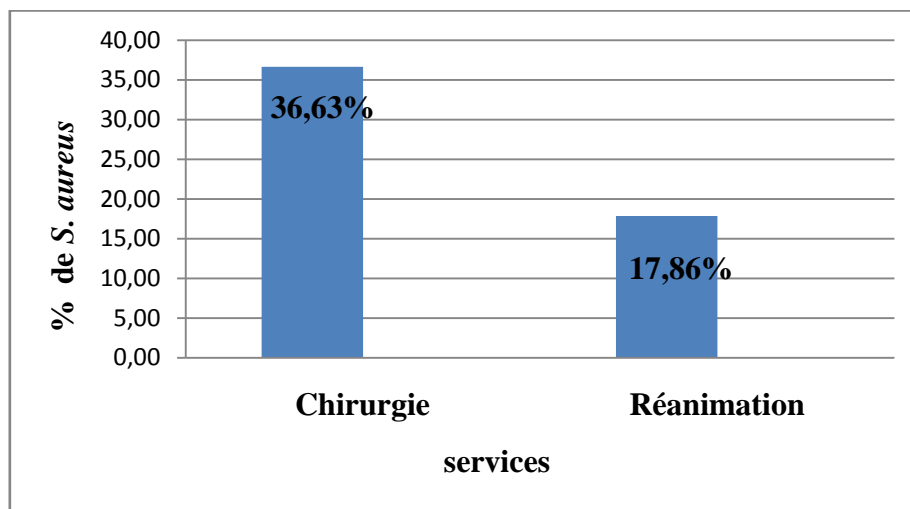


Figure 7. Répartition de *S. aureus* selon les services.

Ce taux obtenu dans le service de chirurgie se rapproche de celui rapporté par **Rebiahi (2012)** qui correspond à 39%. Par contre les résultats obtenus au cours de cette étude, sont supérieurs à ceux de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales réalisée en France en 2012 qui montre un taux d'isolement de *S. aureus* de 19,1% (**Thiolet et al., 2013**).

Dans le service de la réanimation, les résultats obtenus se rapprochent de ceux de l'étude faite par **Saouide El Ayne et al., (2014)** ayant trouvé un taux de 18%, de ceux trouvés par **Lavigne (2016)** en France (15%) et de **Njall et al., (2013)** au Cameroun correspondant à 15,4%. Par contre, nos résultats sont nettement inférieurs à ceux obtenus par **El Anzi (2014)** au CHU Ibn Sina de Rabat estimé à 31,6%.

Le taux assez élevé au niveau des salles de chirurgie est lié probablement et selon nos observations au nombre croissant des patients pris en charge. En effet, une chambre d'hôpital

peut contenir jusqu'à quatre personnes ou plus, ce qui rend difficile de faire la désinfection de manière régulière et efficace.

Selon le test statistique Khi-deux on a constaté qu'il n'y a pas de différence significative entre le service de réanimation et le service de chirurgie (**Annexe G**).

II.5.1.1. Fréquence de *S. aureus* dans les salles de la réanimation

Sur les 80 prélèvements réalisés dans les salles de la réanimation 56 étaient positifs. Nous avons trouvé 10 isolats de *S. aureus*, soit un taux de 17,86%, dont 8,93% sont des SASM (n=5) et 8,93% des SARM (n=5) (Figure 8).

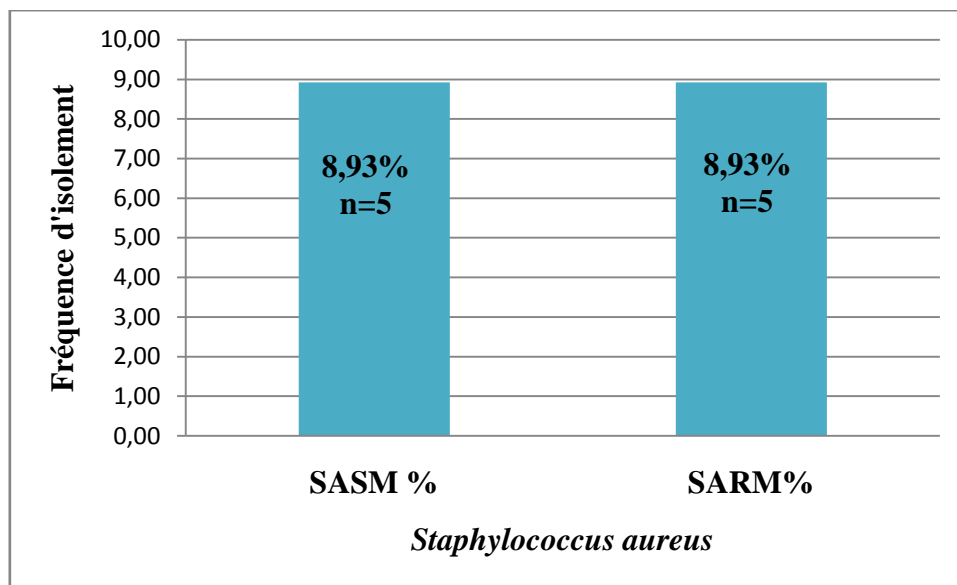


Figure 8. Fréquence de *S. aureus* dans les salles de la réanimation.

Le taux de SARM obtenu dans les salles de la réanimation est supérieur à celui trouvé par **El Anzi (2014)** au CHU Ibn Sina de Rabat qui correspond à 5%. Par contre ce taux est inférieur au taux de 12,5% obtenu par **Aouati (2009)** au CHU de Constantine.

II.5.1.2. Fréquence de *S. aureus* dans les salles de chirurgie

Sur les 170 prélèvements réalisés au niveau des salles de chirurgie, 101 se sont révélés positifs. Nous avons trouvé 37 *S. aureus* soit un taux de 36,63%. 21,78% sont des SASM (n=22) et 14,85% sont des SARM (n=15) (Figure 9).

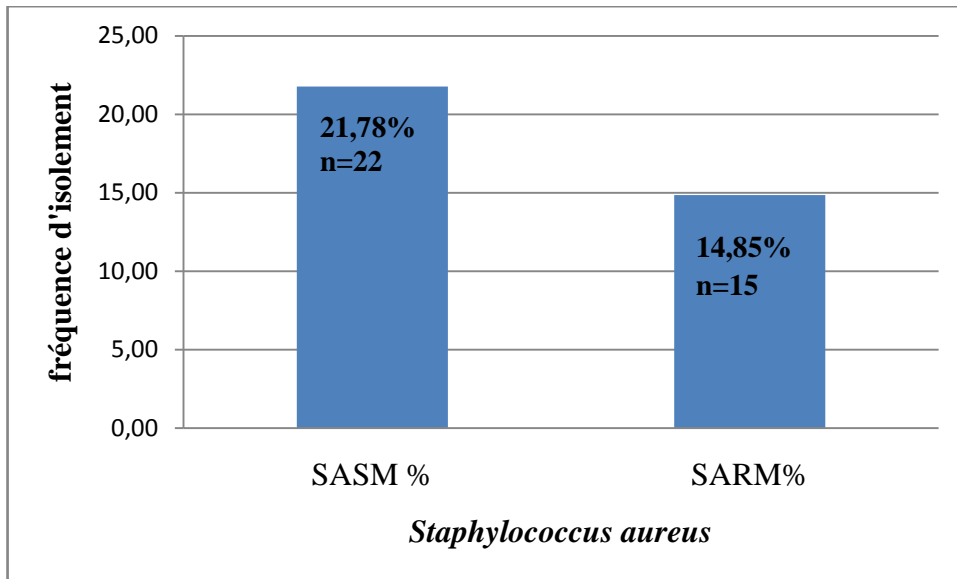


Figure 9. Fréquence de *S. aureus* dans les salles de chirurgie.

Le taux de SARM obtenu dans le service de chirurgie est en parfait accord avec l'étude de **Aouati (2009)** au CHU de Constantine, ayant trouvé une incidence de 15%. En revanche, ce taux est faible par rapport à celui déclaré par **El Anzi (2014)** au CHU Ibn Sina de Rabat qui est de 22%.

II.6. Taux de SARM dans l'environnement hospitalier

Dans le service de réanimation, le taux de SARM par rapport au nombre total de *S. aureus* est de 10,64% (Figure 10). Ces résultats sont inférieurs au taux déclaré par **Lavigne (2016)** en France correspondant à un pourcentage de 28%, et à ceux de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales réalisées en France 2012 qui montre un taux de 31,8% (**Thiolet et al., 2013**).

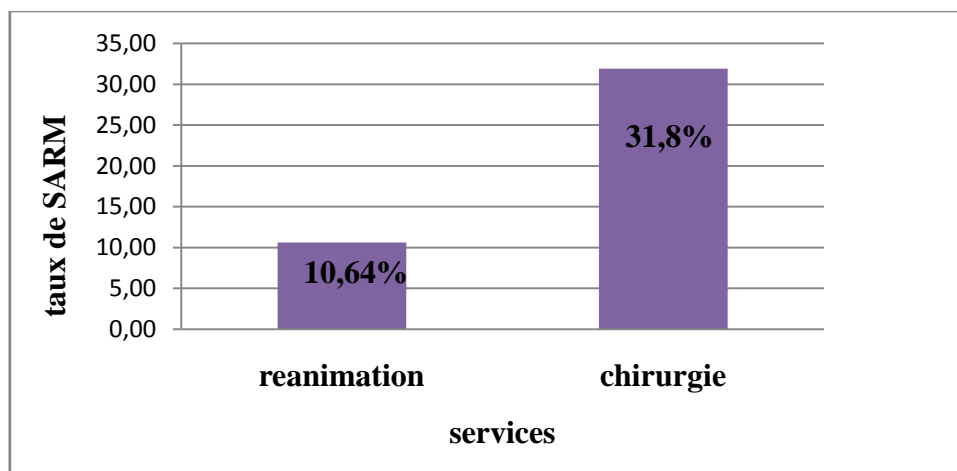


Figure 10. Taux de SARM dans l'environnement hospitalier.

Au niveau du service de chirurgie, cette étude a montré une prévalence de 31,91% des SARM par rapport au nombre total de *S. aureus*. Cette valeur se rapproche de celle publiée par **Thiolet et al., (2013)** en France et qui est de 25,4%. Par contre, ce taux est très inférieur à celui retrouvé au CHU de Tlemcen par **Rebiahi (2012)** correspondant à un pourcentage de 52%.

L'analyse statistique par le test de Khi deux montre qu'il y a une différence significative entre le taux des SARM de la chirurgie et le taux des SARM de la réanimation. (**Annexe H**).

II.7. Répartition de *S. aureus* selon les sites de prélèvements

Réanimation

Le tableau ci-dessous nous montre que le pourcentage des résultats de *S. aureus* est élevé au niveau des lits avec un taux de 7,14 %, en revanche au niveau des autres sites de prélèvements ce taux diminue.

Tableau XIII. Fréquence de *S. aureus* au niveau des sites de prélèvements.

Site	Effectif	SASM	SARM	SASM %	SARM %	Total %
Lits	18	2	2	3,57%	3,57%	7,14%
Poignées de porte	18	1	2	1,79%	3,57%	5,36%
Tables	11	1	1	1,79%	1,79%	3,58%
Surfaces humides	9	1	0	1,79%	0%	1,79%
Total	56	5	5	8,93%	8,93%	17,86%

Salles du service de chirurgie

Le tableau ci-dessous montre des taux élevés de *S. aureus* au niveau des premiers sites de prélèvements c'est-à-dire les lits avec un pourcentage de 16,83 % suivie par les tables de 10,89% alors qu'elle est réduite dans les autres sites.

Tableau XIV. Fréquence de *S. aureus* au niveau des sites de prélèvements.

Site	Effectif	SASM	SARM	SASM %	SARM %	Total
Lits	36	7	10	6,93%	9,90%	16,83%
Poignées de porte	20	4	0	3,96%	0%	3,96%
Tables	28	7	4	6,93%	3,96%	10,89%
Surfaces humides	17	4	1	3,96%	0,99%	4,95%
Total	101	22	15	21,78%	14,85%	36,63%

II.8. Etude de la résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

II.8.1. Détection de SARM par le screening test

La détection de la résistance à la céfoxitine a permis de répartir les 47 souches isolées en deux catégories : les souches sensibles à la céfoxitine (SASM) et les souches résistantes à la céfoxitine (SARM). Ceci nous a permis de déterminer le taux des souches SARM parmi le total des souches de *S. aureus* isolées. Ces résultats sont décrits dans la figure 11.

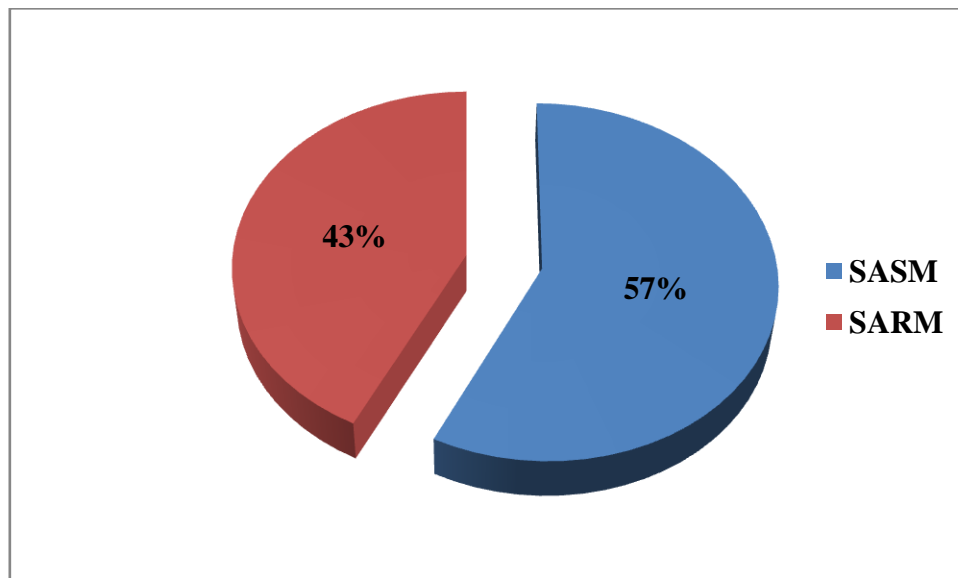


Figure 11. Taux des souches de SARM.

Les résultats montrent que parmi les 47 souches de *S. aureus*, 20 étaient résistantes à la céfoxitine (SARM) représentant ainsi 43% des souches. Le reste des souches (27) montre une sensibilité à la céfoxitine (SASM) ce qui représente un pourcentage de 57%.

Le pourcentage global des SARM parmi l'espèce *S. aureus* s'échelonne dans les hôpitaux français de 10,5% à 16,5% suivant les réseaux Réussir en 2016 (**Brieu et Delarbre, 2017**).

Le taux des SARM isolés dans notre étude est statistiquement plus élevé que celui obtenu par **Aouati (2009)** au CHU Ben Badis de Constantine qui correspond à 32,7% et moins important que celui rapporté par **Alioua et al., (2014)** au CHU de Annaba qui est de 62,2%.

En Afrique, la prévalence des SARM est variable. Elle était de 36% au Bénin en 2006 avant de diminuer en 2008 avec un taux de 14,5%. En Tunisie dans une étude réalisée à l'hôpital Charles Nicolle (**Saidani et al., 2006**), elle était de 10%. Au Maroc, un taux de 10% a été rapporté par **Elazhari et al., (2010)** à Casablanca.

En Algérie, le taux des SARM est en augmentation avec 4,5% en 2002 (**Kesah et al., 2006**), 33,2% en 2004 (**Ramdani-Bouguessa et al, 2006**), 45% en 2006 (**Bekkhoucha et al., 2009**) et de 52% en 2009 (**Rebiahi et al, 2011**).

Dans les hôpitaux algériens, **Amazian et al., (2006)** ont rapporté un taux de conformité aux règles d'hygiène de 18,6%. De ce fait, cette importante diffusion des SARM pourrait s'expliquer par l'absence de dispositifs disponibles pour l'hygiène des mains et une connaissance insuffisante de pratique d'hygiène adéquate.

II.8.2. Etude du phénotype de résistance des souches SARM

Pour toutes les souches de SARM, nous avons déterminé les différents phénotypes de résistance à partir des résultats de l'antibiogramme.

Les différents phénotypes de résistances des SARM sont consignés dans le tableau XV.

Tableau XV. Phénotypes de résistance des souches SARM.

N° DU PROFIL	PHENOTYPES DE RESISTANCE	NOMBRE DE SOUCHES
1	P.FOX.TET	1
2	P.FOX.E.FAD	1
3	P.FOX.E.TET	2
4	P.FOX.E.CMN.TET	1
5	P.FOX.AMK.K.SXT.FAD	1
5	P.FOX.AMK.K.E.CMN.SXT.FAD	1
7	P.FOX.AMK.K.FAD	1
8	P.FOX.AMK.K.CIP.LVX.SXT.FAD	3
9	P.FOX.AMK.K.CMN.CIP.SXT.FAD	1
10	P.FOX.TOB.AMK.K.E.CIP.SXT.TET.FAD	1
11	P.FOX.GMN.TOB.AMK.K.OFX.CIP.LVX.SXT.FAD	2
12	P.FOX.AMK.K.CIP.TET.FAD.RIF	1
13	P.FOX.TET.FAD	1
14	P.FOX.E.CMN.CIP.SXT.FAD.RIF	1
15	P.FOX.AMK.K.OFX.CIP.LVX.SXT.FAD	1
16	P.FOX.AMK.K.E.CMN.CIP.SXT.TET.FAD.RIF	1

Pour les souches SARM, nous avons noté 16 phénotypes différents et toutes ces souches sont résistantes au moins à un antibiotique en plus de la famille des bêta-lactamines. On remarque que presque toutes les souches sont multirésistantes.

II.8.3. Répartition des phénotypes de résistance aux aminosides

Les principaux phénotypes de résistance conférés sont montrés dans le tableau XVI.

Tableau XVI. Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistances.

Enzymes	Phénotypes	K	AMK	TOB	GMN
Aminoside phosphotransférase	K	R	R	S	S
Aminoside nucléotidytransférase	KT	R	R	R	S
Aminoside acétyltransférase	KTG	R	R	R	R

(Quincampoix et Mainardi, 2001)

En se référant au tableau ci-dessus, les différents phénotypes des SARM aux aminosides sont représentés dans la figure 12. Vis-à-vis des aminosides, on note que 35% des SARM sont sensibles.

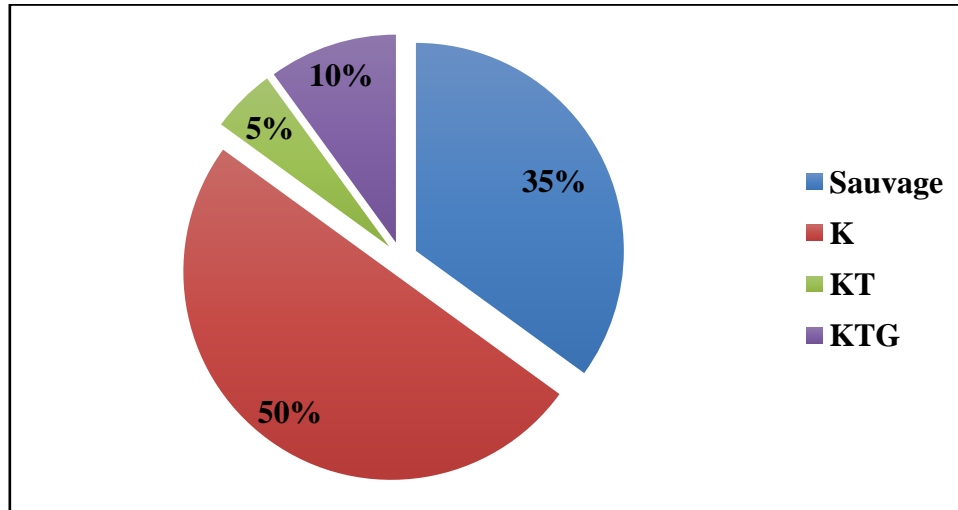


Figure 12. Phénotypes de résistance des SARM aux aminosides.

La lecture interprétative de l'antibiogramme a permis de détecter trois phénotypes de résistance aux aminosides, avec une prédominance du phénotype K (50%) dû à la production de l'enzyme phosphotransférases. Ce taux se rapproche de celui signalé par **Seddik (2012)** qui est de 51%.

En deuxième position, on note la présence de phénotype KTG avec un pourcentage de (10%) due à l'enzyme acétyltransférases. Ce dernier reste moins important que celui trouvé par **Rebiahi et al., (2011)** correspondant à un pourcentage de 45%.

Enfin le phénotype KT est de 5%, exprimé par la production de l'enzyme nucléotidyltransférases. Ceci est en corrélation avec celui constaté par **Seddik (2012)** qui est de 6,06 %.

II.8.4. Répartition des phénotypes de résistance aux Macrolides-Lincosamides-Streptogramines (MLS)

Pour la famille des MLS, il est intéressant de détailler les phénotypes de résistances, vu leur variété et leur importance du point de vue épidémiologique. Les principaux phénotypes de résistance conférés sont montrés dans le tableau XVII.

Tableau XVII. Principaux phénotypes de résistance aux MLS chez *S. aureus*.

Mécanisme	Phénotype	Erythromycine	Clindamycine	Pristinamycine
Méthylation ribosomale	MLSb inducible	R	S	S
	MLSb constitutive	R	R	S
Efflux	MSb	R	S	S
Modification enzymatique	L	S	R	S
Efflux	LS _A	S	I	S/I
Modification enzymatique	S ou LS	S	S/I	R

(Daurela et Leclercq, 2008)

Les différents phénotypes de résistance des SARM aux MLS sont présentés dans la figure 13

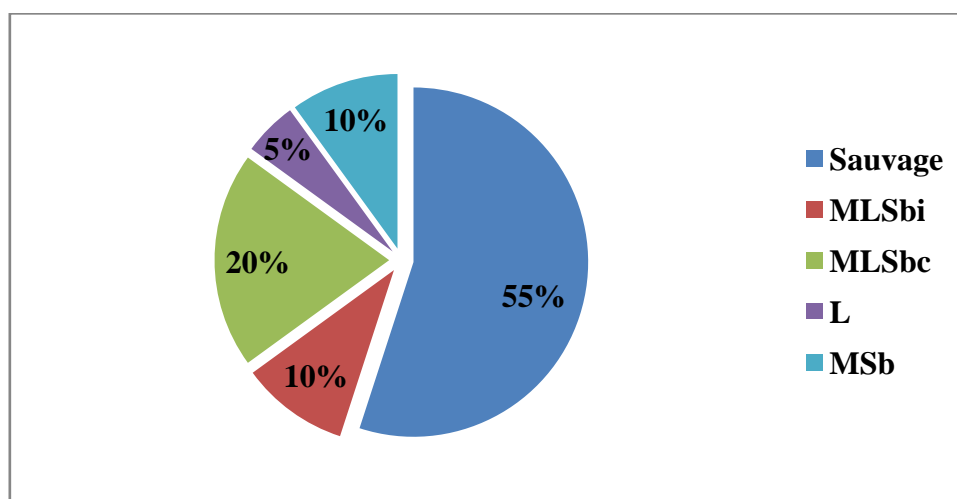


Figure 13. Phénotype de résistance des SARM aux MLS.

Vis-à-vis des MLS, 55% des souches sont de phénotype sauvage. Le phénotype MLSb est de 30%, d'expression le plus souvent constitutive (20%) qu'inductible (10%). On remarque que 10% des souches ont un phénotype MSb et seulement une souche (5%) avec un phénotype L. Nous n'avons décelé aucune souche résistante à la pristinamycine indiquant l'absence de phénotype LS_A ou S_A.

Selon **Quincampoix et Mainardi (2001)**, le phénotype MLSb constitutif prédomine chez les SARM par contre le phénotype MLSb inducible prédomine chez les SASM.

Stewart *et al.*, (2005), ont rapporté que dans les souches de SARM, la résistance MLSb inductible était de 38% et une résistance MLSb constitutive était de 30% à Atlanta. Dans une étude réalisée au Japon, la résistance MLSbi était de 40% et la résistance MLSbc était de 61% (Otsuka *et al.*, 2007).

II.8.5. Répartition des souches SARM selon la CMI

La CMI est la plus petite concentration de l'antibiotique qui inhibe toute croissance bactérienne. Celle-ci est déterminée en se basant sur la présence ou l'absence de colonies sur une boîte de Pétri contenant les différentes concentrations de la vancomycine ($\mu\text{g/ml}$).

La répartition des souches SARM selon la CMI vis-à-vis de la vancomycine est donnée dans le tableau suivant.

Tableau XVIII. Répartition des souches selon les CMI.

C ($\mu\text{g/ml}$)	0,125	0,25	0,5	1	2	4	[8 -5120]
Nombre de SARM	0	0	0	4	14	2	0
Pourcentage (%)	0	0	0	20	70	10	0

On note d'après le tableau que toutes les souches de SARM sont résistantes à une concentration égale ou inférieure à $0,5\mu\text{g/ml}$. Quatre (04) souches sont inhibées par la concentration de $1\mu\text{g/ml}$ et la plus part des SARM (70%) présentent une CMI de $2\mu\text{g/ml}$. Seulement deux souches ont été trouvées avec une CMI de $4\mu\text{g/ml}$.

La souche est dite sensible pour une CMI inférieure ou égale à $4\mu\text{g/ml}$, intermédiaire pour $4 < \text{CMI} \leq 8\mu\text{g/ml}$ et résistante pour une CMI supérieure à $8\mu\text{g/ml}$. Dans notre étude, l'antibiogramme a révélé que la totalité des SARM étaient sensibles à la vancomycine.

II.8.6. Taux de résistance des souches

Durant cette étude, nous avons remarqué que les pourcentages de résistance des *S. aureus* vis-à-vis des différentes familles des antibiotiques étaient très variables, ceci est illustré dans la figure 14 et le Tableau XIX.

Tableau XIX. Répartition des souches SARM selon leurs résistances aux ATB.

Antibiotique	Nombre des souches résistances	P (%)	Nombre des souches sensible	P(%)
Pénicilline (P)	20	100	0	0
Céfoxitine(FOX)	20	100	0	0
Gentamicine(GM)	2	10	18	90
Tobramycine(TOB)	3	15	17	85
Amikacine(AMK)	13	65	7	35
Kanamycine(K)	13	65	7	35
Erythromycine (E)	8	40	12	60
Clindamycine (CM)	5	25	15	75
Pristinamycine (PT)	0	0	20	100
Ofloxacine(OFX)	3	15	17	85
Ciprofloxacine (CIP)	11	55	9	45
Levofloxacine (LVX)	6	30	14	70
Vancomycine (VA)	0	0	20	100
Cotrimoxazol (COT)	12	60	8	40
Tétracycline (TET)	8	40	12	60
Acide fusidique (FAD)	16	80	4	20
Rifampicine (RIF)	3	15	17	85

Les résultats ont montré :

Une résistance de la totalité des souches (100%) vis-à-vis de la pénicilline et céfoxitine. suivie d'une résistance élevée à l'acide fusidique (80%), ainsi que l'amikacine, la kanamycine (65%) et au cotrimoxazol (60%).

Une résistance moyenne vis-à-vis du ciprofloxacine (55%), suivie d'une résistance de 40% à la tobramycine, la tétracycline et l'érythromycine. le taux de résistance de levofloxacine et clindamycine sont respectivement de 30% et 25%.

Le taux de résistance est de 15% pour l'ofloxacine et la rifampicine et 10% pour la gentamycine. Aucune résistance n'a été notée pour la pristinamycine et la vancomycine (*cf. Répartition des souches SARM selon la CMI*)

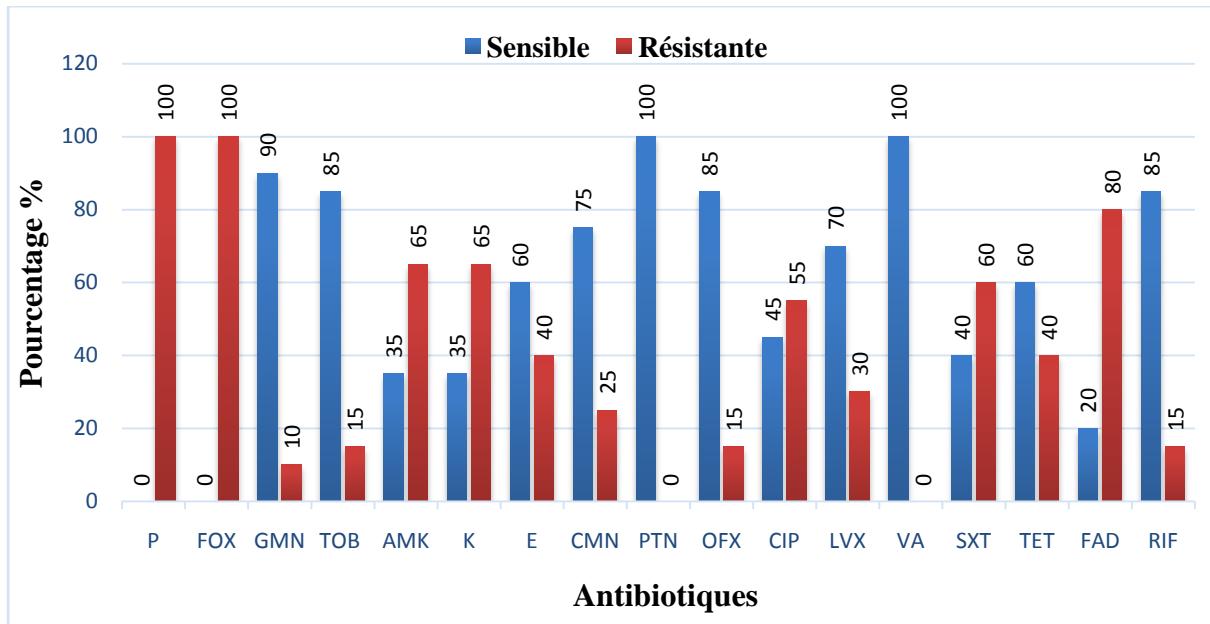


Figure 14. Répartition des SARM selon leurs résistances et sensibilités aux ATB.

La résistance aux antibiotiques des souches de SARM était variable. Plus de la moitié des souches (n=13) étaient multirésistantes (résistances à plus de trois familles d'antibiotiques).

Nos souches sont 100% résistantes à la pénicilline et à la céfoxitine. Ces résultats corroborent avec ceux trouvés par **Rebiahi et al., (2011)** et ceux rapportés par **Mastouri et al., (2006)**.

A l'échelle moléculaire, la cassette chromosomique qui porte le gène *mecA* codant pour la méticillino-résistance véhicule des copies de plasmides responsables de la résistance à d'autres familles d'antibiotiques (**Corne, 2004**).

Notre taux de SARM résistant à la gentamicine (10%) est supérieur à celui signalé par **Ouchenane et al., (2011)** correspondant à 6,25% et moins important que celui trouvé par **Rebiahi (2012)** qui est de 30%.

L'analyse des résultats de la résistance à la gentamicine des SARM en Algérie montre que son taux est globalement en progression : il était de l'ordre de 7% en 2006 (**Ramdani-Bouguessa et al., 2006**). Actuellement, il se situe à 23,99% comme rapporté par le **Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, (2017)**.

Cette augmentation pourrait être expliquée par une possible évolution vers la résistance aux aminosides qui est principalement liée à l'acquisition via des transposons ou des plasmides d'enzymes inactivant ces antibiotiques (**Denis et al., 2016**).

Notre taux de résistance à l'érythromycine est de 40% et est voisin à celui rapporté par **Aouati (2009)** qui est de 42%. La résistance à cette molécule chez les SARM varie d'un pays à un autre allant de 10% en 2003 au Liban jusqu'à 93,9% aux Etats Unis (**Ouchenane et al., 2011 ; Gus et al., 2009**).

Avec un taux de résistance de 25%, la clindamycine a été active sur la plupart des souches testées. Néanmoins, son utilisation est déconseillée en raison d'un risque élevé de sélection de mutants constitutifs (**Leclercq et al., 2002**).

Les résultats montrent que la résistance à la clindamycine a été souvent associée à celle de l'érythromycine ce qui nous incite à penser au même mécanisme de résistance (MLSb) qui confère une résistance croisée aux Macrolides, Lincosamides et StretogrammineB par méthylation de l'ARN ribosomique 23S (**Bismuth et Leclercq 2000**).

La Pristinamycine constitue une nouvelle arme thérapeutique avec des avantages bactériologiques et pharmacologiques indéniables. Nos résultats montrent une sensibilité de 100%. Ce taux est en accord avec une étude qui décrit que la pristinamycine est active sur toutes les souches de *Staphylococcus aureus*, sans distinction du caractère méti-S ou méti-R (**Mezghani et al., 2012**).

Le taux de résistance marqué dans notre étude vis-à-vis de l'ofloxacine est de 15%. Nos résultats rejoignent ceux rapportés en Afrique du Sud par **Shittu et al., (2006)** correspondant à 16%. Par contre, ils sont moins importants que ceux rapportés par **Alioua et al., (2009)** qui a signalé un pourcentage significativement élevé 83,7 % .

La résistance aux FQ a été tant évoquée, et s'explique par la mutation du gène parC de l'ADN gyrase, conférant une haute résistance ainsi qu'une surexpression des pompes *Multi Drug Resistance*(MDR) (**Hooper et Jacoby, 2015**).

Dans cette étude l'antibiogramme a révélé que la totalité des SARM étaient sensibles à la vancomycine. Contrairement à nos résultats, **Rebiahi et al., (2011)** ont rapporté à Tlemcen que 3 souches de SARM étaient résistantes à la vancomycine, avec des CMI allant de (16 µg/mL, 64 µg/mL, et 128 µg/mL), appuyés par la détection du gène *van A*.

L'augmentation des SARM dans les hôpitaux algériens a favorisé l'intégration des glycopeptides dans les schémas thérapeutiques permettant l'élimination de ces souches, ces molécules étaient jusqu'à ces dernières années préservées du phénomène de résistance. D'autres auteurs ont déclaré que l'augmentation des SARM a accompagné l'utilisation abusive de la vancomycine (**Awad et al., 2007**).

On constate que nos souches ont un niveau de résistance de 40% vis-à-vis des tétracyclines. Ces résultats se rapprochent de ceux trouvés au Liban par **Hamez et al., (2006)** où les souches de SARM montrent une résistance de 41,33%.

En revanche, nos résultats restent inférieurs à ceux trouvés en Tunisie par **Mastouri et al., (2006)** correspondant à un taux de 66%.

Selon **Denis et al., (2016)**, la résistance des staphylocoques à la TCY peut être due au mécanisme d'efflux grâce à des protéines TetK situées dans la membrane interne ou une protection des sites actifs du ribosome par d'autres protéines (TetO ou TetM).

La Rifampicine a été efficace contre les souches de SARM isolées. Trois (03) souches se sont révélées résistantes vis-à-vis de cette molécule. Selon **Benjemaa et al., (2004)** et **Rebiahi et al., (2011)**, les taux de résistance sont de 6.7% et 11% respectivement. En Algérie son utilisation a été relativement délaissée au profit de nouvelles molécules, ce qui pourrait expliquer son efficacité. Les résistances à la rifampicine sont liées à des mutations du gène *rpoB* responsables d'une modification de sa cible (ARN-polymérase) (**Denis et al., 2016**).

Les souches dans cette étude expriment une sensibilité à la cotrimoxazole avec un taux de 40%. Ce taux est moins important que celui retrouvé par **Touatia (2016)** à Annaba avec un taux de 54 %. Cependant très peu d'études cliniques ont évalué son efficacité vis-à-vis des infections à SARM. En France, la sensibilité au cotrimoxazole est très importante car on dénombre un pourcentage de 96,9% (**Brieu et Delarbre, 2017**).

Selon **Walsh (2016)**, la résistance à cette classe d'antibiotique peut trouver sa cause dans l'hyperproduction des enzymes cibles du DHPS ou du DHFR.

Nos résultats montrent un taux important de résistance à l'acide fusidique estimé à 80%, qui sont supérieurs à ceux trouvés à Annaba (66%) par **Touatia (2016)**. En France, en 2017, l'incidence de la résistance à l'acide fusidique est faible car leur proportion était de 15,3 % (**Brieu et Delarbre, 2017**). D'après **Foster (2017)**, la résistance à cet antibiotique est la conséquence d'une diminution de l'affinité entre le facteur d'élongation et l'antibiotique (résistance de type chromosomique, mutation du gène *fusA* codant le facteur EF-G) ou un défaut de pénétration dans la bactérie (résistance de type plasmidique, gène *fusB* ou *fusC*).

Conclusion

CONCLUSION

Les staphylocoques dorés demeurent parmi les pathogènes les plus importants, responsables d'infections humaines graves. La méticillino-résistance continue également à représenter le marqueur essentiel de l'antibio-résistance de ces derniers.

Notre étude a porté sur l'isolement, l'identification et l'étude du profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline isolées à partir de différents sites du milieu hospitalier dans le service de réanimation et de chirurgie. Les résultats de l'identification ont permis de caractériser 47 souches de *Staphylococcus aureus* et l'évaluation de leurs niveaux de résistance aux antibiotiques a permis de mettre en évidence que 43% de ces souches étaient résistantes à la méticilline.

Ces souches expriment une multirésistance qui touche plusieurs molécules spécifiquement les bêta-lactamines avec 100 % de résistance, l'acide fusidique 80% de résistance, aminosides 65% de résistance vis-à-vis de la kanamycine et l'amikacine, la cotrimoxazole 60% de résistance, les fluoroquinolones avec 55% de résistance au ciprofloxacine, et les macrolides avec 40% de résistance pour l'érythromycine, qui sont des molécules massivement utilisées en antibiothérapie. Cette situation semble être le reflet d'une utilisation irrationnelle d'antibiotiques et l'absence d'une politique nationale bien définie. Cependant, aucune résistance n'est enregistrée vis-à-vis de la pristinamycine et de la vancomycine.

L'évolution de la résistance pendant ces dernières années a montré que les taux de résistance restent élevés et ne diminuent pas.

Cette étude montre que le service le plus contaminé est le service de chirurgie avec un taux de 31,91% et les sites présentant une fréquence d'isolement élevée de SARM sont : les lits avec un taux de 9,90% suivi par les tables avec un taux de 3,96%.

Les sites précédemment cités constituent l'environnement immédiat du patient. Ceci nous a permis de constater que la présence de telles bactéries multi résistantes dans l'environnement immédiat du patient constitue un risque réel d'acquisition d'infections nosocomiales.

Ces agents pathogènes nosocomiaux peuvent bien survivre ou persister sur des surfaces pour des mois, et peuvent ainsi être une source de transmission au continu, en l'absence de désinfection régulière des surfaces.

Le rôle particulier de l'environnement hospitalier dans la propagation des bactéries multi-résistantes a longtemps été considéré comme négligeable. A l'échelle nationale, très peu

d'études ont été faites dans ce contexte, et les données épidémiologiques concernant la fréquence des SARM dans l'environnement font défaut.

Ces résultats nous incitent à proposer des recommandations au sein des structures sanitaires. Il s'agit particulièrement du renforcement de l'application des mesures générales d'hygiène, et plus précisément l'hygiène des malades et de l'environnement hospitalier, le lavage fastidieux des mains et le port de gants. On constate qu'une mauvaise hygiène des mains est considérée comme étant responsable dans 40% de toutes les infections nosocomiales, en plus de la sensibilisation du personnel hospitalier concernant ce risque sous-estimé et de la nécessité d'une surveillance adéquate des SARM dans l'environnement des hôpitaux algériens.

Tous les professionnels de santé : médecins, infirmiers, thérapeutes, pharmaciens, ingénieurs et autres, doivent être impliqués dans la lutte contre les infections nosocomiales. Il existe des preuves concluantes démontrant que la prévention de l'infection est beaucoup plus efficace que le traitement.

Cette étude ouvre de nombreuses perspectives :

- ✓ Il est nécessaire d'évaluer dans un cadre clinique des méthodes de détection de SARM plus modernes, y compris moléculaire car les méthodes classiques de détection sont lentes, et prennent souvent jusqu'à 72 heures pour confirmer leur présence à partir d'un écouvillon de dépistage ou d'un échantillon clinique.
- ✓ Identifier les relations clonales entre les souches isolées d'un patient hébergeant un SARM et celles isolées de son environnement par l'analyse des fragments de restriction.
- ✓ Des rapports prospectifs contrôlés sont nécessaires pour élucider correctement le rôle joué par la contamination des surfaces et de l'air (et de décontamination) dans la transmission des agents pathogènes nosocomiaux.

Références bibliographiques

Alessandro, E. (2012). Preventing the infection risk in hospital? Anthropological reflections on hospital hygiene in a medical ward in Niger. *Anthropologie et Santé*, (4), p. 1-17.

Alioua, M. A. (2015). Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline, Thèse de doctorat en Microbiologie appliquée. Annaba, Faculté des Sciences, Badji Moukhtar, 223p.

Amazian, k., Abdelmoumène, T., Sekkat, S., Terzaki, S., Njah, M., Dhidah, L., Caillat-Vallet, E. Saadatian-Elahi, M. et Fabry, J. (2006). Multicentre study on hand hygiene facilities and practice in the Mediterranean area: Results from the NosoMed network. *Journal of Hospital Infection*, **62**(3) p. 311-318.

Aouati, H. (2009) Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques, thèse pour l'obtention du Diplôme de Magister en Microbiologie appliquée et Biotechnologies microbiennes. Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Mentouri, 123p.

Archer, K., Mazaitis, J., Costerton, J., William Leid, G., Powers, M. E et Shirtliff, M. E. (2011). *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*, **2**(5), p. 445-459.

Arumugam, G., Hariharan, P. et Paul-Satyaseela, M. (2017). *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. In *Frontiers in Staphylococcus Aureus*. IntechOpen, p. 4-28.

Awad, S. S., Elhabash, S. I. et Lee, L. (2007). Increasing incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections: reconsideration of empiric antimicrobial therapy. *American Journal of Surgery*, **194**(5), p. 606-610.

Becker, K. (2018). Pathogenesis of *Staphylococcus Aureus*. In *Staphylococcus Aureus*. 1ère édition. Academic Press, p. 13-38.

Bekkhoucha, S. N., Cady, A. et Gautier, P. (2009). A portrait of *Staphylococcus aureus* from the other side of the Mediterranean Sea: Molecular characteristics of isolates from western Algeria. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **28**(5), p. 553-555.

Ben Jemaa, Z. Mahjoubi, F., Ben Haj H'mida, Y., Hammami, N. Ben Ayed, M. et Hammami, A. (2004). Profil bactériologique des bactériémies et sensibilité aux antibiotiques des bactéries en cause dans la région de Sfax (1993-1998). *Pathologie Biologie*, **52**(2), p. 82-88.

Bismuth, R. et Leclercq, R. (2000) .*Staphylococcus aureus* et antibiotiques. In *Précis de Bactériologie clinique*. 2ème édition. ESKA, p. 611-616.

Bouvier-Slekovec, C. (2013). Prévention et maîtrise des infections nosocomiales selon trois approches appliquées à différents niveaux d'action, Thèse de doctorat en Recherche Clinique, Innovation technologique, Santé Publique. Faculté de médecine et de pharmacie, Franche-Comté. 223p.

Bukowski, Michal., Wladyka, Benedykt., Dubin, A. et Dubin, G. (2018). The Staphylococcal Exfoliative Toxins. In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. 1ère édition. Elsevier Inc., p. 127-133.

Buxeraud, J. (2014). Les effets indésirables des antibiotiques. *Actualités pharmaceutiques*, **3**(4), p. 272-272.

Caby, F., Bismuth, R. et Bossi, P. (2010). Infections à staphylocoques. *EMC - Traité de médecine AKOS*. Elsevier, **12**(3), p. 1-7.

Carretto, E., Visiello, R. et Nardini, P. (2018). Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. 1ère édition. Elsevier Inc., p. 225-235.

Chen, C. J. et Huang, Y. C. (2014). New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*, **20**(7), p. 605-623.

Corne, P. (2004). *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. 116p.

Daniau, C., Léon, L., Blanchard, H et Bernet, C. (2018). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017. Invs.12p

Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Cattoir, V., Barbeyrac, B. de, Barraud, O., B. et C., and Fumat, C. (2016). *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. 3ème édition. Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux.

El Anzi, O. (2014). Profil de Sensibilité aux Antibiotique des Souches de *Staphylococcus Aureus* Isolées Au Centre Hospitalier Ibn Sina De Rabat. Thèse pour l'obtention de doctorat en medecine. Universite mohammed V – Souissi . Faculte de Medecine et de Pharmacie, Rabat. 101p.

Elazhari M, Zerouali K, Elhabchi D, Cohen N, Elmalki A, Dersi N, H. M. et Timinouni M, S. R. (2010). Antibiotic susceptibility of strains of *Staphylococcus aureus* community in Casablanca (Morocco). *Rev Tunis Infect*, **4**, p. 134-140.

Elliott, T., Casey, A., Lambert, P., Sandoe, J. (2011). *Medical Microbiology and Infections: Lectures Notes*. 5ème édition. wiley-Blackwell. 231p

European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). (2008). EARSS Annual Report. Disponible sur :
http://www.rivm.nl/earss/Images/EARSS%202008_final_tcm61-65020.pdf

Falagas, Matthew E., Karageorgopoulos, Drosos E., Leptidis, J et Korbila, I. P. (2013). MRSA in Africa: Filling the Global Map of Antimicrobial Resistance. *PLoS ONE*, **8**(7).

Foster, T. J. (2016). The remarkably multifunctional fibronectin binding proteins of *Staphylococcus aureus*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **35**(12), p. 1923-1931.

Foster, T. J. (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews*, **41**(3), p. 430-449.

Foster, T. J. et Geoghegan, J. A. (2015). *Staphylococcus aureus*. In *Molecular Medical Microbiology*, 2ème édition. Elsevier Ltd, p. 655-674.

Gachot, B. et Coriat, P. (2019). Le risque médico-judiciaire des infections nosocomiales. *Medecine et Droit*. Elsevier Masson SAS, p. 1-5.

Galy, E. et Verdeil, X. (2017). Entretien des locaux dans les établissements de santé et établissements médico – sociaux. 74p

Ghernaout-Benchouk S. (2013). Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* : son rôle dans l'infection du site opératoire, Thèse de Doctorat en Sciences Médicales : maladies infectieuses. Tlemcen, Faculté de Médecine B. Benzerdjeb, 197p

Grosjean, J., Clavé, D., Archambaud, M., Pasquier, C. (2017). *Bactériologie et Virologie pratique*. 3ème editi. Louvain-la-Neuve : De Boeck, 290p.

Gus W, Krucke M, Deanna E, Grimes PH, Richard M, Thai D, D. M. (2009). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*—containing cutaneous abscesses of patients with HIV. *American Journal of Emergency Medicine*, **27**, p. 344-347.

Haddad M.S. (2005). Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé (Air, Eau et surfaces). Xème journée régionale d'hygiène hospitalière de Bizerte.

Hamze, M., Dabboussi, F., Daher, W. et Izard, D. (2003). Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* at north Lebanon: place of the methicillin resistance and comparison of detection methods. *Pathologie Biologie*, **51**(1), p. 21-26.

Herman-Bausier, Philippe., Valotteau, Claire., Pietrocola, Giampier., Rindi, Simonetta., Alsteens, David., Foster, Timothy J., Speziale, P. et Dufrêne, Y. F. (2016). Mechanical Strength and Inhibition of the *Staphylococcus aureus* Collagen-Binding Protein Can. *CrossMark*, **7**(5), p. 1-11.

Hooper, D. C. et Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: Quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), p. 12-31.

Hu, D-L., Wang, L., Fang, R. Okamura, M. et Ono, H. K. (2018). *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. In *Staphylococcus aureus*. 1ère édition. Elsevier Inc., p. 39-55.

Kais, H. (2011). Epidémiologie des infections liées aux soins et à l'environnement dans les différents services de l'hôpital de Boufarik : résultats préliminaires de la prévalence de ce type d'infection nosocomiale, Mémoire de Master en microbiologie et parasitologie. Université de Saad Dahleb de Blida 1, Faculté des sciences Agro-Vétérinaire et Biologie, 66p.

Karsten, B. (2018). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus*. In *Staphylococcus aureus*. Elsevier Inc, p. 13-38.

Kesah, C., Ben Redjeb, S. et Odugbemi, O. (2003). Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. *Clinical Microbiology and Infection*, **9**(2), p. 153-156.

- Kim, E. S., Lee, H. J. et Chung, G. T. (2011).** Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Korea. *Journal of Clinical Microbiology*, **49**(5), p. 1979-1982.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J. et Collins, J. J. (2010).** How antibiotics kill bacteria: From targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group, **8**(6), p. 423-435.
- Krucke, W., Grimes, D. E. et Grimes, R. M. (2009).** Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*-containing cutaneous abscesses of patients with HIV. *American Journal of Emergency Medicine*. Elsevier Inc., **27**(3), p. 344-347.
- Lacey, K., Geoghegan, J. et McLoughlin, R. (2016).** The Role of *Staphylococcus aureus* Virulence Factors in Skin Infection and Their Potential as Vaccine Antigens. *Pathogens*, **5**(1), p. 22.
- Larousse médical. (2006)** . 3 ème édition, Paris : Larousse , 1219 p.
- Larquey, M et Mahé, E. (2018).** Infections cutanées à staphylocoque et streptocoque chez l'enfant », *Perfectionnement en Pédiatrie*, 1(1), p. 25-31.
- Lavigne, T. (2016).** Surveillance des infections nosocomiales en réanimation : intérêt d'une approche multimodale clinico-biologique et étude d'impact, thèse de doctorat en aspect moléculaire et cellulaire de la biologie. Paris, Faculté des Sciences de la vie et de la santé, Starsbourg, 155p.
- Leclercq, R. (2002).** Résistance des staphylocoques aux antibiotiques. *Annales Francaises d'Anesthesie et de Reanimation*, **21**(5), p. 375-383.
- Malachowa, N. et Deleo, F. R. (2010).** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **67**(18), p. 3057-3071.
- Mastouri, M. Nour, M. Ben Nejma, M. Bouallegue, O. Hammami, M. et Khedher, M. (2006).** Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline: Détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathologie Biologie*, **54**(1), p. 33-36.
- Merzougui, L., Barhoumi1, T., Guizani, T., Barhoumi, H., Hannachi1, H., Turki, E., Majdoub, W. (2018).** Nosocomial infections in the Intensive Care Unit: Annual incidence rate and clinical aspects, *Pan African Medical Journal*, 30(143), p. 1-9.

- Mezghani Maalej, S. Malbruny, B., Leclercq, R. et Hammami, A. (2012).** Emergence of *Staphylococcus aureus* strains resistant to pristinamycin in Sfax (Tunisia). *Pathologie Biologie*. Elsevier Masson SAS, **60**(6), p. 71-74.
- Mistretta, N., Brossaud, M. Telles, F., Sanchez, V., Talaga, P. et Rokbi, B. (2019).** Glycosylation of *Staphylococcus aureus* cell wall teichoic acid is influenced by environmental conditions. *Scientific Reports*, **9**(1), p. 1-11.
- Moreno-Flores, A., Potel-Alvarellos, C et Otero-Fernández, S. (2018).** Phenotypic and genetic characteristics of fluoroquinolone- and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, **36**(7), p. 403-408.
- Nawrotek, P., Karakulska, J. et Fijalkowski, K. (2018).** The Staphylococcal Panton-Valentine Leukocidin (PVL). In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. 1^{er} editio. Elsevier Inc., p. 117-125.
- Njall, C., Adiogo, D., Bitá, A., Ateba, N., Sume, G., Kollo, Basile., Binam, F. et Tchoua, R. (2013).** Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *Pan African Medical Journal*, **14**(140), p. 1-8.
- Brieu, N et Delarbre, J. (2018).** Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA). Rapport d'activité 2017. 131p.
- Otsuka, T., Zaraket, H., Takano, T., Saito, K., Dohmae, S., Higuchi, W. et Yamamoto, T. (2007).** Macrolide–lincosamide–streptogramin B resistance phenotypes and genotypes among *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Japan. *Clinical Microbiology and Infection*, **13**(13), p. 325-327.
- Ouchenane, Z., Smati, F., Rolain, J.-M et Raoult, D. (2011).** Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Algeria. *Pathologie Biologie*, **59**, p.229-132.
- Pantosti, A. (2012).** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. *Frontiers in Microbiology*, **3**(127), p. 1-12.
- Peacock, S. J. et Paterson, G. K. (2015).** Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annual Review of Biochemistry*, **84**(1), p. 577-601.
- Pontieri, E. (2018).** *The Staphylococcal Hemolysins*. In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. 1^{ère} édition. Elsevier Inc.

Quincampoix, J. et Mainardi, J. (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Elsevier*, **9**(10), p. 267-275.

Ramdani-bouguessa, N., Reverdy, M. et Lina, G. (2006). Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Resistant to Multiple Antibiotics and Carrying the Panton-Valentine Leukocidin Genes in an Algiers Hospital. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50**(3), p. 1083-1085.

Rebiahi, S. (2012). Caractérisation De Souches De *Staphylococcus Aureus* Et Etude De Leur Antibiorésistance Au Niveau Du Centre Hospitalo-Universitaire De Tlemcen, thèse de doctorat en Microbiologie. Tlemcen. 118p.

Rebiahi, S. A. Abdelouahid, D. E., Rahmoun, M., Abdelali, S. et Azzaoui, H. (2011). Emergence of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria). *Medicine et Maladies Infectieuses*. Elsevier Masson SAS, **41**(12), p. 646-651.

Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (2016). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 15ème rapport d'évaluation (de Janvier à Décembre 2014). 76p.

Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (2018). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, 18ème rapport d'évaluation (de janvier à décembre 2017). 157p.

Rózalska, B. et Sadowska, B. (2018). In Vivo Resistance Mechanisms: Staphylococcal Biofilms. In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. 1ère édition. Elsevier Inc, p. 237-251.

Saïdani, M., Boutiba, I., Ghazzi, R., Kammoun, A. et Ben Redjeb, S. (2006). Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Medicine et Maladies Infectieuses*, **36**(3), p. 163-166.

Saouideelayne, N., Echchelh, A. et Chaouch, A. (2014). Rôle De L'Environnement Hospitalier Dans La Prévention Des Infections Nosocomiales : Surveillance De La Flore Des Surfaces a L'Hôpital El Idrissi De Kenitra – Maroc. *European Scientific Journal*, **10**(9), p. 238-47.

Seddik, H. (2012). Etude de la résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques en milieu hospitalier (CHU Mustapha Bacha), Memoire de Master en microbiologie. Université de Saad Dahleb de Blida 1, Faculté des sciences Agro-Vétérinaire et Biologie, 66p.

Shittu, A. O. et Lin, J. (2006). Antimicrobial susceptibility patterns and characterization of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in KwaZulu-Natal province, South Africa. *BMC Infectious Diseases*, **6**(125), p. 1-13.

Standardisation des tests de sensibilités en antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). 7^{ème} édition. 2014

Steward, C. D., Raney, P. M., Morrell, A. K., Williams. P. McDougal, K., Jevitt, L. McGowan, E et Tenover, C. (2005). Testing for induction of clindamycin resistance in erythromycin-resistant isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, **43**(4), p. 1716-1721.

Teggar, F. (2013). Etude de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées en milieu hospitalier, Mémoire de Master en microbiologie. Université de Saad Dahleb de Blida 1, Faculté des sciences de la nature et de la vie, 57p.

Thiolet, JM., Vaux, S., Lamy, M., Barret, A. & Léon, L. (2013). Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. *Résultats St-Maurice Inst VeilleSanit*.

Touaitia, R. (2016) *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance, thèse de doctorat en microbiologie. Annaba, Faculté des Sciences, Badji Mokhtar.106 p.

Tricoire, J. (2016). Réanimation et soins intensifs en néonatalogie. In *Infections nosocomiales*, p. 666.

Trivalle, C. (2016). Infections: Prévention des infections nosocomiales. In *Gerontologie Préventive*. 3^{ème} édition. Elsevier Masson, p. 379-385.

Vázquez-Sánchez, D. et Rodríguez-López, P. (2017). Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus*. In *Staphylococcus aureus*. 1^{ère} édition. Elsevier Inc, p. 87-103.

Walsh, C et Wencewicz, T. (2016). *Antibiotics: Challenges, Mechanisms, Opportunities*. 1^{ère} édition. ASM Press.

Yılmaz, E. Ş et Aslantaş, Ö. (2017). Antimicrobial resistance and underlying mechanisms in *Staphylococcus aureus* isolates. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **10**(11), p. 1059-1064.

Annexes

ANNEXES

Annexe A. Matériel non biologique

Matériels et Verrerie	Appareillage	Réactifs, colorants et milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> - Boîtes de pétri rondes (90mm). - pipettes pasteur. - Lames. - Tubes secs. - Ecouillons simples en coton. - Portoirs. - Micropipettes (5µl), (50µl) . - Embouts. - Eppendorfs. - Tubes à essai. - Pince métallique. - Seringue. - Poire. 	<ul style="list-style-type: none"> - Bain marie. - Autoclave. - Etuve. - Microscope Photonique. - Réfrigérateur. - Bec bunsen. - Centrifugeuse - Balance. - Congélateur. - Vortex. 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau oxygénée. - Eau physiologique. - Kit d'agglutination de PASTOREX STAPH-PLUS - Kit de recherche de la PLP2a « Slidex MRSA (bioMérieux)» - Huile à immersion - Glycérol - Violet de gentiane 1% - Lugol 10% - Fuchsine de Ziehl 1% - Alcool à 95%, - Gélose Nutritive - Gélose Chapman - Milieu Mueller-Hinton - Bouillon glucosé tamponné (BGT) - BHIB - Gélose DNase

Annexe B. Constitution des milieux de cultures et d'enrichissement utilisés

<p>Muller Hinton</p> <ul style="list-style-type: none"> • Infusion du bœuf 300 g/L • Hydrolysate de caséine.....17.5g/L • Amidon1.5 g/L • Gélose17 g/L • pH= 7.3±0.1 	<p>Gélose nutritif</p> <ul style="list-style-type: none"> • Peptone5 g/l • Chlorure de sodium5 g/l • Extrait de bœuf1.5 g/l • Extrait de levure 1.5 g/l • Gélose 15g/l • pH= 7.4±0.2
<p>Chapman</p> <ul style="list-style-type: none"> • Peptone 10 g/l • Chlorure de sodium 75 g/l • Mannitol 10g/l • Rouge de phénol 0.025g/l • Gélose 15g/l • pH= 7.4 	<p>BGT</p> <ul style="list-style-type: none"> • Peptone20 g/l • Chlorure de sodium 2.5g/l • Dihydrogénophosphate de potassium0.7g/l • Hydrogénophosphate de sodium.....8.3g /l • Glucose 8.3g/l • pH= 7.4
<p>Gélose DNase</p> <ul style="list-style-type: none"> • Casein peptone.....15g • Soy peptone.....5g • Sodium chloride.....5g • Dextroxyribonucleic acid.....2g • Bacteriological agar.....15g • Ph=7, 3 	<p>BHIB</p> <ul style="list-style-type: none"> - Infusion de cervelle de veau ...200g - Infusion de coeur de boeuf.....50g - Peptone de gélatine.....10g - Chlorure de sodium.....5g - Phosphate disodique.....2,5g - Glucose..... 2g - Ph=7,4

Annexe C. Examen microscopique : coloration de Gram

✓ *Technique*

- A partir d'une suspension bactérienne, réaliser un frottis en couche fine sur une lame.
- Sécher et fixer le frottis à la flamme du bec bunsen.
- Recouvrir la lame avec le violet de gentiane et laisser agir 1 mn.
- Recouvrir la lame par le lugol et laisser agir 1 mn, puis rincer à l'eau.
- Décolorer la préparation à l'alcool, puis stopper la décoloration par rinçage à l'eau.
- Recouvrir la lame avec de la fuschine et laisser agir 30 secondes à 1 mn.
- Rincer à l'eau.
- Sécher entre 2 feuilles de papier buvard.
- Examiner à l'immersion.

✓ *Lecture*

La lecture se fait au microscope optique en déposant une goutte d'huile d'immersion sur la lame (grossissement 10x100) montrant des cocci en diplocoques ou en grappe de raisin de couleur violette.

Annexe D. Lecture de la galerie miniaturisée API 20 STAPH.

Tests	Composant actif	Réaction/Enzyme	Résultats	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin Négatif	Rouge	-
GLU	D-glucose	Témoin Positif	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose	Acidification	Rouge	Jaune
MNE	D-mannose			
MAL	D-maltose			
LAC	D-lactose (origine bovine.			
TRE	D-tréhalose			
MAN	D-mannitol			
XLT	Xylitol			
MEL	D-mélibiose			
NIT	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites	NIT 1 +NIT2/ 10min	
			Incolore/rose pale	Rouge
PAL	β -naphtylphosphate	Phosphatase Alcaline	ZYM A + ZYM B/ 10 min	
			Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl-carbinol	Réactifs VP1 + VP2/ 10mn	
			Incolore/Rose pale	Rose/violet
RAF	D-raffinose	Acidification	Rouge	Jaune
XYL	D-xylose			
SAC	D-saccharose			
MDG	Méthyl- α D-glucopyranoside			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
<u>ADH</u>	L-Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/Orange
<u>URE</u>	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/Violet

**Annexe E. valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour
*Staphylococcus spp.***

Antibiotiques testés	abréviation	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
			R	I	S	R	I	S
Pénicilline	PG	10 UI	≤28	—	≥29	≥0,25	—	≤0,12
Oxacilline	OXA	—	—	—	—	≥4	—	≤2
Céfoxitine	FOX	30µg	≤21	—	≥22	≥8	—	≤4
Gentamicine	GM	10 µg	<12	13 -14	>15	>16	8	<4
Kanamycine	KN	30 µg	≤13	14-17	≥18	≥64	32	≤16
Amikacine	AK	30µg	≤14	15-16	≥17	≥64	32	≤16
Tobramycine	TOB	10µg	<18	—	≥18	>1	—	≤1
Erythromycine	ERY	15 µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0.5
Clindamycine	CN	2µg	≤14	15-20	≥21	≥4	1-2	≤0.5
Vancomycine	VAN		—	—	—	≥16	4-8	≤2
Teicoplanine		30 µg	≤10	11-13	≥14	≥32	6	≤8
Ofloxacine	OFX	5µg	<14	15-17	≥18	>4	2	<1
Ciprofloxacine	CIP	5µg	<15	16-20	>21	>4	2	<1
Lévofloxacine	LVX	5µg	<15	16-20	>21	>4	2	<1
Triméthoprime+Sulfaméthoxazole	SXT	1,25/23,75µg	<10	11-15	>16	>4/76	—	<2/38
Rifampicine	RA	5 µg	<16	17-19	>20	>4	2	<1
Tétracycline	TET	30 µg	<14	15-18	>19	>16	8	<4
Chloramphénicol	C	30 µg	<12	13-17	>18	>32	16	<8
Quinupristine-Dalphopriline		15 µg	≤15	16-18	≥19	≥4	2	≤1
Acide fusidique**	FAD	10 µg	<24	—	≥24	>1		≤1
Fosfomicine IV **	FF		—	—	—	>32		≤32

*tableau extrait du document M100 S24, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement

*Extraits des recommandations 2014 du comité de l'Antibiogramme de la société française de microbiologie

Annexe F. Les résistances associées aux antibiotiques des isolats de SARM

Les résultats de l'antibiogramme réalisé pour chaque souche de SARM isolée sont présentés dans le tableau ci dessous.

NB : les souches intermédiaires sont considérées comme résistantes

N°	β-lac		Aminosides				Macrolides			Quinolones			Glyco	Autres			
	P	FOX	GMN	TOB	AMK	K	E	CMN	PTN	OFX	CIP	LVX	VAN	SXT	TET	FAD	RIF
1	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R
2	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	I	R	S	R	S
3	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
4	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S
5	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
6	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S
7	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S
8	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
9	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
10	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
11	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S
12	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S
13	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S
14	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I	R	S	R	S
15	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	I	R	S	R	R
16	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	I	R	S	R	S
17	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R
18	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S
19	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S
20	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S

P : Pénicilline, GMN : Gentamycine, TOB : tobramycine, AMK : Amikacine, K : Kanamycine, E : Erythromycine, CMN : Clindamycine, PTN : Pristinamycine, OFX : Ofloxacin, CIP : Ciprofloxacine, LVX : Levofloxacine, VAN : Vancomycine, SXT : Cotrimoxazole, TET : Tétracycline, FAD : Acide fusidique, RIF : Rifampicine, Glyco : Glycopeptides, βlac : βlactamines.

Annexe G. Analyse statistique

Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme significative. L'erreur était fixée à 5%.

Hypothèse théorique :

	Chirurgie	REA
SASM	21,2553191	5,74468085
SARM	15,7446809	4,25531915

Khi deux théorique : 3,84

Hypothèse observée :

	chirurgie	Réanimation
SASM	0,02608992	0,0965327
SARM	0,03522139	0,13031915

Khi deux observé : 0,28

Annexe H.

Test d'indépendance (Khi-deux) "SARM"/" Réanimation" VS "Chirurgie"

Alpha : 0.05

Df : 3

Valeur P : 0.037666212159644

Statistique du test : 8.444444444444444

Valeur critique : 7.81472790325118