

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLAB de Blida-1-  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de  
Master en Sciences Biologiques  
Option : Microbiologie-Bactériologie

### Thème

## Identification et Antibiorésistance des Staphylocoques isolés de plusieurs prélèvements au niveau de l'Hôpital de Koléa (Tipaza)

**Présenté par :** HADJ MOHAMED Radia

**Soutenu le :** 23-10-2014

**Heure :** 11h00 (Salle Amphi 5)

**Devant le jury :**

M <sup>me</sup> AISSANI R.	Maître-assistante A	Univ. Blida 1	<b>Présidente</b>
M <sup>me</sup> AIT SAADI N.	Maître-assistante A	Univ. Blida 1	<b>Examinatrice</b>
M <sup>me</sup> BOUDJEMA N.	Maître de Conférences B	Univ. Blida 1	<b>Examinatrice</b>
M. BOUKHATEM M.N.	Maître de Conférences B	Univ. Blida 1	<b>Promoteur</b>

**Promotion: 2013 /2014**

# Remerciements

*Nous remercions Allah le tout puissant pour nous avoir donné le courage et la volonté de réaliser ce modeste travail.*

*Je tiens à estimer mes remerciements avec une profonde reconnaissance et gratitude à Mr BOUKHATEM pour tous ses précieux conseils donnés au cours de l'année, me permettant de réaliser au mieux ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier Mme la présidente AISSANI d'avoir accepté de juger notre travail.*

*Nous tenons aussi à remercier profondément les membres du jury, Mesdames BOUJAMAA et AIT SAADI, pour leurs conseils et leurs regards critiques. Nous allons les prendre en compte dans la réalisation des futurs travaux.*

*Je témoigne mes remerciements à tous mes enseignants de m'avoir transmis de solides connaissances qui me seront très utiles dans ma carrière professionnelle et universitaire.*

*La mort est certaine, mais l'heure de la mort est incertaine. C'est en sachant que nous sommes poussière et retournerons à la poussière que notre cœur roule de rancœur et des blessures intérieures surtout que vous n'êtes plus. Sans doute, j'avoue que tu me manques.*

*A ma très chère Grand-Mère YAMINA qui a précipité au-delà par la mort que Dieu ait son âme en paix. Qu'elle soit immortalisée par ce travail et que ses empreintes restent à jamais.*

*J'adresse mes remerciements à A Ma tendre Mère RACHIDA : Tu représente pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.*

*A Mon très cher Père KHELIFA : Aucune dédicace ne saurait exprimer*

*L'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

*A ma chère Sœur **NAYLA** Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études. Ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

*A mes chers **Grands Parents** pour leurs prières pour moi qui m'ont aidé pour réussir dans ma vie.*

*A mes Chères Tantes **FATIHA, GHANIA, FATMA ZOHRA, RATIBA, FETHIA** et mes Chers Oncles **MOHAMED, ABDELKADER, FODIL** et leurs femmes **KHALIDA, NAIMA, KHALIDA** qui m'ont aidé énormément dans mon travail de mémoire moralement et matériellement.*

*A mes Cousins et Cousines en particulier Ma Cousine préférée **MOUNIA** pour son soutien morale et pour sa présence.*

*Je tiens à remercier tous mes chers amis qui m'ont aidé dans mon travail en premier mes Grand frères **MOUMEN** et **OMAR**, Mes Grandes Sœurs **MAYA** et **ANIA**, Mn Âme Sœur **DAHIBIA**, Ma Confidente **FOUZIA, TATA LINDA, HOCINE, HIND, ASMA, AYOUB, YANIS**.*

*Et tous mes chers amis qui m'ont soutenu moralement : **TATA NAIMA, NASSIM, HOUSSAM, NAZIM, SID ALI, JIJA, BOUTHAINA, HANAN, NACER, SOUAD, AMEL, NADIR, HOUDA, MEREOUANE, RYMA, FOUZI, BILLEL**.*

*Je tien à remercier mes chères collègues pour leurs soutien dans les difficiles moments : **ASMA, ROMAÏSSA, ASMA, ZUINA, BAYA, RYMA, SOMIA, IMANE, MERJEM, IMANE**.*

## RÉSUMÉ

Notre étude a été réalisée au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Koléa (Tipaza) sur des prélèvements purulents, urinaires et ceux destinés à l'hémoculture, provenant d'infections hospitalières ou communautaires, en vue de déterminer la fréquence des staphylocoques isolés et d'évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques (ATB).

Sur 1403 prélèvements obtenus, 61 répondaient aux critères d'infection liée aux staphylocoques (4.34%). Le sex-ratio F/H est de 0.79. Les isolats staphylococciques sont retrouvés essentiellement dans les prélèvements purulents (60.65 %) de toutes origines, suivis des prélèvements urinaires (24.59 %) et des hémocultures (14.75 %).

L'espèce *S. aureus* domine le profil épidémiologique pour les infections communautaires avec un taux de 61.53% alors que la souche *S. epidermidis* a été retrouvée prédominante chez les patients hospitalisés (68.57%). La fréquence de la résistance globale des *S. aureus*, hospitalières et communautaires, à la pénicilline G (80.6%) et la gentamycine (61.53%) demeure élevée. Les vancomycine et pristinaamycine (100%) ainsi que les phénicolés (96.23%) conservent une bonne activité.

La multi-résistance des staphylocoques est devenu remarquablement répandue dans les prélèvements humains, d'où la nécessité de la mise en œuvre d'une stratégie active et efficace garantissant une sécurité microbiologique afin d'éviter la propagation de cette résistance.

**Mots-clés :** Staphylocoques ; *Staphylococcus aureus* ; *Staphylococcus epidermidis* ; Résistance d'antibiotiques ; Antibiogramme.

## ABSTRACT

Our study was conducted at the Bacteriology Laboratory of Kolea (Tipaza) Hospital. The aim of this study was to determine the prevalence of staphylococci in clinical purulent, sepsis and urinary samples, and to test the sensitivity of the selected strains against a various antibiotic (ATB) discs.

Among 1403 clinical samples obtained, only 61 was related to staphylococci infections (4.34%). The sex ratio W/M was 0.79. *Staphylococcus* strains were found mainly in the purulent samples (60.65%), followed by urinary samples (24.59%) and blood cultures (14.75%).

*S. aureus* was found to be the mainly isolated strains with a rate of 61.53% while the *S. epidermidis* strain was found predominantly in hospitalized patients (68.57%). The frequency of the overall resistance of *S. aureus* against penicillin G (80.6%) and gentamicin (61.53%) remains high. However, the vancomycin and pristinamycin (100%) and chloramphenicol (96.23%) keep a good activity.

The multi-resistant *Staphylococcus* has become extremely widespread in the human infections, hence the need for the accomplishment of an active and effective strategy ensuring microbiological safety to prevent the spread of this resistance.

**Keywords:** Staphylococci; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*; Antibiotic resistance; Disc diffusion method.

## ملخص

و عليه فإن هذه الدراسة التي أجريت بمخبر البكتريولوجيا بمستشفى القليعة (تيازة)، هدفت إلى التعرف على مستوى تواجد البكتيريا العنقودية و مدى مقاومتها للمضادات الحيوية في عينات القيح , البول و الدم لدى النزلاء الداخليين و الخارجيين للمستشفى المذكور.

فقد تم تسجيل 61 حالة تستجيب لمعايير الإصابة البكتيريا العنقودية (4.34%) و ذلك من أصل من أصل 1403 عينة مدروسة حيث كان معامل الفرق بين الجنسين ذ/أ 0.79. حيث كانت نسبة الإصابة البكتيريا العنقودية كالتالي 60.65% بالنسبة لمختلف عينات القيح، 24.59 % بالنسبة للبول، و 14.75% بالنسبة لعينات الدم.

و لقد تصدرت أس الأوريس قائمة البيكتيريا الأكثر انتشارا في العينات المدروسة و ذلك بنسبة 61.53% تلتها في ذلك فصيلة س. إبيدريميد يس التي انتشرت أكثر عند المرضى الماكثين بالمستشفى و ذلك بنسبة (68.57%) أما المقاومة الإجمالية للبينيسيلين و التي أظهرتها أس. أروس المتواجدة بالمستشفيات و خارجها فقد قدرت بـ (80.6%)، (61.53%) للجينتاميسين، و (57.69%) بالنسبة للكاناميسين. أما الفاكوميسينات و البريستيناميسين (100%) و كذلك الفينوكل (96.23%) فقد حافظت على مستوى نشاط جيد.

و ستنادا إلى هذه النتائج فإن مشكلة مقاومة البكتيريا العنقودية للمضادات الحيوية في تفاقم مثير للقلق، مما يستوجب العمل الحثيث للتصدي لها من خلال وضع استراتيجية نشطة و فعالة تضمن الأمن الميكروبيولوجي للمحيط و الأطعمة بغية تجنب انتشار ظاهرة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية.

**كلمات دلالية:** بكتيريا عنقودية ; مقاومة المضادات الحيوية ; أونتيبيوجرام، أس. أروو ; س. إبيدريميد يس.

## Liste des abréviations

<b>ATB</b>	Antibiotique	<b>PLP</b>	Protéine Liant les Pénicillines
<b>DA</b>	Clindamycine	<b>SRIS</b>	syndrome de réponse inflammatoire systémique
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection	<b>SXT</b>	Cotrimoxazole
<b>BLSE</b>	β-Lactamase à spectre Elargie	<b>Tétra</b>	Tétracycline
<b>C</b>	Chloramphénicol	<b>TNF</b>	Facteur de Nécrose Tumorale
<b>CA-SFM</b>	Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie	<b>TSI</b>	Triple Sugar Iron
<b>CMI</b>	Concentration Minimale d'Inhibition	<b>TSST-1</b>	Syndrome du choc Toxique Toxine-1
<b>CNR</b>	Centre National de Référence	<b>V</b>	Vancomycine
<b>E</b>	Érythromycine		
<b>GM</b>	Gentamicine		
<b>GN</b>	Gèlose Nutritive		
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sulfure d'hydrogène		
<b>IU</b>	Infection Urinaire		
<b>K</b>	Knamycine		
<b>LDH</b>	Lactate Déshydrogénase		
<b>MH</b>	Muller-Hinton		
<b>N1</b>	Nitrite 1		
<b>N2</b>	Nitrite 2		
<b>ODC</b>	Ornithine Décarboxylase		
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de Santé		
<b>OXA</b>	Oxacilline		
<b>P</b>	Pénicilline		
<b>PT</b>	Pristinamycine		
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Mécilline		
<b>SPS</b>	Poly anéthol Sulfonâtes de odium		

## Liste des figures

N° Figure	Titre	Page
Figure 1.1	: Principales infections humaines causées par les staphylocoques.....	6
Figure 1.2	: Facteurs de virulence chez les <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
Figure 2.3	: Technique de l'antibiogramme.....	21
Figure 2.4	: Lecture de l'antibiogramme.....	21
Figure 3.1	: Fréquence des prélèvements selon la positivité de la culture.....	23
Figure 3.2	: Répartition des cultures positives selon le type de prélèvement.....	24
Figures 3.3	: Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements urinaires.....	24
Figure 3.4	: Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements purulents.....	25
Figure 3.5	: Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements sanguins.....	25
Figure 3.6	: Fréquence des staphylocoques dans tous les prélèvements.....	26
Figure 3.7	: Répartition des staphylocoques isolés selon le sexe.....	26
Figure 3.8	: Répartition des staphylocoques selon l'espèce isolée.....	27
Figure 3.9	: Isolement des souches staphylococciques sur milieu Chapman.....	27
Figure 3.10	: Répartition des espèces staphylococciques selon la provenance des prélèvements.....	28
Figure 3.11	: Profil de résistance des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
Figure 3.12	: Profil de résistance des <i>Staphylococcus epidermidis</i> isolés.....	29

## Liste des Tableaux

N° Tableau	Titre	Page
<b>Tableau 1.1</b>	Activité, mécanisme d'action et mode de résistance.....	<b>(Annexe 01).</b>
<b>Tableau 2.1</b>	La liste des antibiotiques testés pour les staphylocoques.....	<b>22</b>
<b>Tableau 2.2</b>	Origine et caractéristiques des souches de références utilisées.....	<b>22</b>
<b>Tableau 2.3</b>	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour staphylocoques.....	<b>(Annexe 02)</b>
<b>Tableau 3.1</b>	Principaux caractères biochimiques des staphylocoques isolés.....	<b>27</b>
<b>Tableau 3.2</b>	Répartition des espèces de staphylocoques selon le type d'infection.....	<b>28</b>
<b>Tableau 3.3</b>	Fréquences des cultures positives, négatives et contaminées .....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.4</b>	Répartition des cultures positives selon l'origine des prélèvements.....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.5</b>	Répartition des staphylocoques dans les infections urinaire.....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.6</b>	Répartition des staphylocoques dans les pus .....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.7</b>	Répartition des staphylocoques dans les hémocultures.....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.8</b>	Répartition des staphylocoques dans tous les prélèvements.....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.9</b>	Répartition des staphylocoques dans tous les prélèvements selon le sexe .....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.10</b>	Répartition des staphylocoques dans tous les prélèvements selon l'espèce .....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.11</b>	Résistance et la sensibilité des staphylocoques dans tous les prélèvements .....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Tableau 3.12</b>	Résistance et sensibilité des <i>Staphylococcus aureus</i> dans tous les prélèvements.....	<b>(Annexe 03).</b>
<b>Figure 3.13</b>	Résistance et sensibilité des <i>Staphylococcus epidermidis</i> dans tous les prélèvements.....	<b>(Annexe 03).</b>

# SOMMAIRE

<b>Chapitre 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	3
Introduction .....	1
1.1. Généralités sur quelques infections humaines.....	3
1.1.1. Infections urinaires .....	3
1.1.2. Plaies infectées.....	3
1.1.3. Bactériémie .....	4
1.2. Caractéristiques des staphylocoques.....	4
1.2.1. Définition .....	4
1.2.2. Condensé historique .....	4
1.2.3. Classification taxonomique .....	5
1.2.4. Staphylocoque doré .....	5
1.2.5. Staphylocoques blancs .....	6
1.2.6. Facteurs de virulence de physiopathologie.....	7
1.2.6.1. Composants de la paroi .....	7
1.2.6.2. Facteurs d'invasion et d'adhésion .....	7
1.2.6.3. Substance élaborées par <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
1.3. Antibiotiques.....	10
1.3.1. Définition .....	10
1.3.2. Historique .....	10
1.3.3. Différentes familles :.....	11
1.3.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques .....	11
1.3.4.1. Types de résistance .....	11
1.3.4.2. Mécanisme d'apparition des résistances.....	11
1.3.4.3. Résistances mutationnelles ou mutations chromosomiques .....	12
1.3.4.4. Évolution de la résistance .....	12
<b>Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODES</b> .....	13
2.1. Matériel .....	13
2.1.1. Matériels non biologique et appareillage.....	13
2.1.2. Milieux de culture et solutions de coloration .....	13
2.1.3. Tests et réactifs d'identification .....	14
2.2. Méthodes .....	14

2.2.1. Technique de prélèvement .....	14
2.2.1.1. Prélèvement des urines pour l'examen cytbactériologique des urines .....	14
2.2.1.2. Prélèvement de pus à partir de plaies infectées .....	14
2.2.1.3. Prélèvement du sang destiné à l'hémoculture.....	15
2.2.2. Examen macroscopique .....	15
2.2.3. Examen microscopique .....	15
2.2.4. Recherche et isolement des staphylocoques .....	16
2.2.4.1. Mise en culture .....	17
2.2.4.1.1. Examen bactériologique des urines .....	17
2.2.4.1.2. Examen bactériologique du pus .....	17
2.2.4.1.3. Hémoculture .....	17
2.2.4.2. Identification des espèces du genre <i>Staphylococcus</i> .....	17
2.2.4.2.1. Coloration de Gram .....	18
2.2.4.2.2. Tests biochimique .....	18
2.2.4.2.2.1. Recherche de la catalase .....	18
2.2.4.2.2.2. Test de Staphaurex .....	18
2.2.4.2.2.3. Identification biochimique par Mini-galerie classique.....	19
2.2.4.2.3. Antibiogramme.....	21
<b>Chapitre 3 .RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>23</b>
3.1. Analyses microbiologiques des prélèvements.....	23
3.1.1. Fréquence des prélèvements après culture .....	23
3.1.2. Répartition des cultures positives selon le prélèvement.....	23
3.1.3. Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements urinaires.....	24
3.1.4. Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements purulents .....	24
3.1.5. Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements sanguins.....	25
3.1.6. Fréquence des staphylocoques dans tous les prélèvements .....	25
3.1.7. Répartition des staphylocoques selon le sexe .....	26
3.1.8. Répartition des staphylocoques selon l'espèce isolée .....	28
3.1.9. Répartition des espèces de staphylocoques selon les services .....	28
3.2. Antibiorésistance des souches staphylococciques isolées.....	28
3.2.1. Profil de résistance des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
3.2.2. Profil de résistance des <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	29
Discussion générale .....	30
Conclusion	
Références bibliographiques	

## Annexes

## Glossaire

**Cystite** : inflammation de la vessie.

**Urétrite** : inflammation de l'urètre.

**Prostatite** : inflammation de la prostate.

**Pyélonéphrite** : infection urinaire qui touche le parenchyme de rein et les parties sous-jacentes.

**Incision** : c'est une petite coupure faite par un chirurgien avec un bistouri.

**Abrasion** : frottement ou grattement superficiel de certains tissus de la peau.

**Lacération** : lésion résultant d'une déchirure de la peau sous-cutanée.

**Plaie contuse** : altération par un choc, un objet contondant.

**Pleurésie** : inflammation de la plèvre.

**Furoncle** : inflammation aiguë d'un pilo-sébacé.

**Scarlatine staphylococcique** : maladie infectieuse de la peau due à la bactérie de staphylocoque.

**Sepsis sévère** : un syndrome d'infection générale et grave de l'organisme par des germes pathogènes.

**Oponisation** : un processus biochimique par lequel une molécule dite opsonine recouvre la membrane cellulaire.

**Moyen d'immun-sérum** : le sérum de sujet est immunisé naturellement ou artificiellement, contenant des anticorps.

# INTRODUCTION

---

Les bactéries pathogènes sont responsables de plusieurs maladies épidémiques et pandémiques. Dès lors, la quête de nouvelles substances anti-infectieuses est devenue un intérêt de santé publique. A partir d'une succession d'observations et de travaux de nombreux chercheurs dont Pasteur, Joubert, Duchesne puis Fleming, cette quête a abouti à la découverte des antibiotiques (ATB) (**Rosset, 2003 ; Trémolères, 2013**).

L'avènement de ces nouvelles molécules, au lendemain de la seconde guerre mondiale, fut un avantage important pour l'homme dans cette lutte contre les maladies infectieuses. Ainsi l'introduction des ATB en thérapeutique a fait progresser l'espérance de vie de l'homme, sans doute plus qu'aucun autre traitement médical (**McDermott et Rogers, 1982**). Après moins d'un demi-siècle d'existence, ce brillant tableau affiché par ces anti-infectieux s'assombri progressivement. Durant ces 30 dernières années, les infections microbiennes sont devenues récurrentes du fait de l'apparition progressive des bactéries pathogènes résistantes aux ATB. La surconsommation des ATB a aidé ces bactéries, dotées d'un incroyable pouvoir d'adaptation, à prendre progressivement le dessus (**Martinez, 2009 ; Kempf et Zeitouni, 2012 ; Batard et al., 2012**).

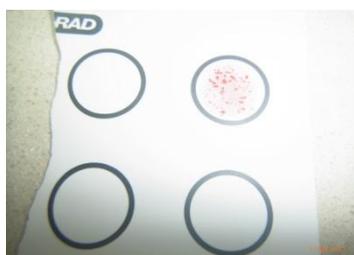
L'évolution rapide de la résistance bactérienne aux ATB est un phénomène actuellement préoccupant dans les pays en voie de développement où les pathogènes résistants aux ATB peuvent avoir une plus forte prévalence dans certains pays africains. L'Algérie est un pays du nord de l'Afrique où les récentes données de résistance aux ATB indiquent une situation inquiétante. En effet, ces dix dernières années ont été marquées par l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance notamment dans le nord du pays (**Baba Ahmed-Kazi Tani et Arlet, 2014**).

Les espèces du genre *Staphylococcus* figurent parmi ces germes qui ont un fort pouvoir adaptatif et ont développé différents mécanismes de résistance aux ATB. Plus de 90% des souches produisent une pénicillinase. L'oxacilline reste active contre ces souches, mais des staphylocoques hospitaliers, et plus récemment communautaires (présents hors de l'hôpital), ont développé une résistance croisée entre les pénicillines M (mécicilline, oxacilline) et les autres  $\beta$ -lactamines par la production d'une Protéine Liant les Pénicillines (PLP) et ayant une faible affinité pour ces composés (**Fernandez-Gerlinger et Mainardi, 2014**). De plus, la pathogénicité des staphylocoques pose peu de problème en ce qui concerne *Staphylococcus aureus* (SA), mais elle est plus discutée pour les staphylocoques à coagulase négative (SCN) (**Michel et Pharm, 2013**).

Les staphylocoques sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et sont souvent responsables d'infections contractées dans les hôpitaux. Leur habitat naturel est constitué par les flores cutanées et les muqueuses humaines et animales. Ils sont également retrouvés dans l'environnement. *S. aureus* est à l'origine de pathologies extrêmement variées, qui peuvent être des infections suppuratives, localisées ou systémiques, mais aussi des syndromes liés à l'action de toxines. Ces infections relèvent d'un véritable problème de santé publique tant par la virulence de la bactérie que par l'émergence de souches multirésistantes aux ATB. Selon les services hospitaliers, ces dernières représentent entre 20 et 50% des souches (Nuemi *et al.*, 2013). Les premiers cas rapportés d'infection à *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) datent de plus de trente ans et revêtaient un caractère nosocomial, l'acquisition de SARM étant liée à l'hospitalisation récente ou à l'exposition prolongée et récurrente aux ATB. Néanmoins, depuis les années 1990, les infections liées aux staphylocoques se sont multipliées chez les adultes et les enfants n'ayant aucun des facteurs de risque d'acquisition de SARM habituellement décrits (Del Giudice *et al.*, 2012 ; Michel *et Pharm*, 2013).

Face à cette préoccupation mondiale - qui est l'émergence des staphylocoques multi-résistants -, il est primordial de conduire des études épidémiologiques afin de comprendre et de contrôler la diffusion et l'augmentation de la résistance des staphylocoques aux ATB.

C'est dans ce contexte que nous avons orienté notre étude qui a été réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Koléa (Tipaza). Notre travail s'est axé principalement sur le diagnostic bactériologique des prélèvements purulents, urinaires et sanguins (destinés à l'hémoculture), provenant de patients hospitalisés ou des consultations externes, en vue de déterminer la fréquence des espèces du genre *Staphylococcus* isolées et d'évaluer ainsi leur profil de résistance aux ATB, afin de mieux définir les stratégies thérapeutiques et préventives.



---

# Chapitre 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

---

## 1.1. Généralités sur quelques infections humaines

### 1.1.1. Infections urinaires :

Étude de l'infection urinaire (IU) en présence d'un germe pathogène dans l'urine et l'existence d'une symptomatologie compatible. Les IU peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite ou épидидymite) ou hautes (pyélonéphrite ou pyélite).

Les IU sont fréquentes tant en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire. Elles se rencontrent chez l'enfant, l'adulte et le vieillard, dans les deux sexes. Parmi les infections nosocomiales, les IU ont une place non négligeable (**Donigolo, 2004**). Parmi les bactéries responsables on peut citer les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. et *Enterobacter* sp.), des bacilles à Gram négatif n'appartenant pas aux entérobactéries (*Pseudomonas aeruginosa*), et les cocci Gram positif (*Streptococcus* sp. et *Staphylococcus* sp.) (**Doroz, 2002 ; Clerc, 1012**).

### 1.1.2. Plaies infectées :

Une plaie se définit par une solution de continuité de la peau ou d'une muqueuse. Elle se caractérise par une effraction du revêtement épithélial à la différence d'une contusion où le revêtement demeure intact.

Seront traitées ici les plaies accidentelles d'origines traumatiques physiques ou chimiques concernant les surfaces cutanées ou muqueuses (en communication avec l'environnement extérieur : muqueuses oculaire, génitale, buccale, œsophagienne, rectale) (**Traore, 2004**). Les plaies peuvent être classées et nommées en fonction de leur origine ou des lésions observées.

#### ✓ Origine

Les plaies peuvent être :

- Accidentelles : incisions, déchirures, brûlures (thermique, chimique ou électrique) ;
- Secondaires : à une augmentation de pression, de tension sous-cutanée ou à une Fragilisation de la peau ;
- Chirurgicales ;

✓ **Lésions visibles**

- Certaines formes lésionnelles de plaies ont des dénominations spécifiques : piqûres, abrasions, incisions, avulsions (caractérisées par un arrachement tissulaire).
- Des adjectifs spécifiques permettent d'indiquer les tissus altérés et l'étendu : plaie simple ou superficielle, plaie profonde, plaie compliquée (envenimée, urticante) et plaie pénétrante ou perforante (elle atteint une cavité naturelle) (**Dellaras, 2007**).

### 1.1.3. Bactériémie :

La bactériémie est définie par la présence d'une bactérie dans le sang circulant, authentifiée par des hémocultures positives. Cette présence peut être éphémère ou chronique et peut être accompagnée de signes cliniques ou pas. Elle peut être le point de départ d'un syndrome de réponse inflammatoire systémique (SRIS), d'un sepsis sévère ou non, voire dans les cas les plus graves d'un choc septique et elle peut être d'origine iatrogène, après une extraction dentaire, une endoscopie, une intervention chirurgicale ou la manipulation d'un foyer infectieux. Les germes passent alors la barrière des vaisseaux et pénètrent dans la circulation sanguine (**Hota et al., 2007**).

## 1.2. Caractéristiques des staphylocoques

### 1.2.1. Définition :

Les staphylocoques sont des coques Gram positifs, en amas, très répandus dans la nature, responsables d'un très grand nombre d'infection chez l'homme et l'animal. Ce sont des bactéries résistantes aux conditions hostiles de l'environnement (chaleur, sécheresse et salinité). Ce sont des bactéries ubiquitaires et saprophytes qui peuvent, occasionnellement, coloniser la peau et les muqueuses de l'homme et l'animal. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus* (**Denis et al., 2007**).

### 1.2.2. Condensé historique :

En 1878, Louis Pasteur (1822-1895), travaillant avec Emile Roux et Chamberland sur les germes des maladies, observa au microscope, dans le pus de furoncle et d'ostéomyélite, des formations en « amas de grains » qu'il appelle staphylocoque (**Karthik, 2007**). En 1880, Alexander Ogston (1844-1929), un écossais, isola le premier les staphylocoques à partir d'abcès et d'autres lésions cutanées et les cultiva *in vitro*, reconnaissant leur rôle dans l'inflammation et la suppuration. Il décrivit en 1881 la première espèce connue de staphylocoque : *Staphylococcus aureus* ou staphylocoque doré en raison de la couleur des colonies bactériennes obtenues en culture.

Plus tard, une autre variété de staphylocoques, donnant des colonies bactériennes non pigmentées, sera nommée tout naturellement staphylocoque blanc (**Kock et al., 2009**). En 1953, est isolée pour la première fois, au Canada, une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline qui était à l'origine de lésions de la peau, de pneumonies chez les enfants ou de septicémies. L'arrivée d'un autre ATB, la méticilline, dans les années 60, a mis fin à cette épidémie. La résistance à la méticilline de souches de *S. aureus* isolées en pathologie humaine n'a pas mis longtemps à survenir et a été décrite dès 1961 au Royaume-Uni. Et à partir des années 1970, les souches de *Staphylococcus aureus* Résistantes à la Méticilline (SARM) sont devenues l'une des premières causes des infections acquises à l'hôpital (infections nosocomiales) avec une dissémination mondiale (**Cleef et al., 2010**).

### 1.2.3. Classification taxonomique :

La classification actuelle des staphylocoques (**Ariznabarreta et al., 2002**) est la suivante :

**Règne :** Bacteria

**Classe :** Cocci

**Ordre :** Micrococcale / Staphylococcale

**Famille :** Micrococaceae / Staphylococaceae

**Genre :** *Staphylococcus*

**Espèce :** *aureus* ; *epidermidis*.

### 1.2.4. Staphylocoque doré :

Les souches de *S. aureus* sont connues pour provoquer des infections de la peau : furoncles, folliculites, panaris, impétigo, abcès mammaires chez les femmes qui allaitent. La moindre lésion cutanée peut leur donner l'occasion de proliférer (**Wulf et al., 2008**). Les infections des muqueuses sont également fréquentes. Au niveau génital, un déséquilibre de la flore naturelle peut laisser aux staphylocoques l'occasion de proliférer. Ils peuvent aussi atteindre les yeux (conjonctivites), les oreilles (otites) ou les voies respiratoires (pneumonies, pleurésies). Toutes ces infections sont susceptibles de se compliquer et d'aboutir à des bactériémies. L'évolution peut alors être fulminante, aiguë et associée à des localisations secondaires multiples et variées (valves cardiaques, os, articulations, rein et cerveau) (**Todar, 2005**).

Le choc toxique staphylococcique (très rare mais potentiellement mortel), avec sa forme mineure, la scarlatine staphylococcique, sont dus à des souches productrices de toxines qu'on appelle entérotoxines. Le syndrome d'exfoliation généralisée, et sa forme mineure localisée, l'impétigo bulleux, sont dus à des souches productrices d'exfoliatines (**Nehal et al., 2010**).

*S. aureus* partage avec la bactérie *Escherichia coli* le premier rang des germes responsables d'infections nosocomiales. L'élévation de l'incidence des infections staphylococciques est en rapport avec le nombre croissant de malades immunodéprimés mais aussi avec la multiplication des procédures invasives qui lèsent la barrière cutané-muqueuse (interventions chirurgicales, pose de cathéters ou de sondes, implantation de prothèses). De telles procédures favorisent la pénétration dans l'organisme de souches véhiculées par les patients ou par les membres de l'équipe soignante (transmission manuportée) (Thomas *et al.*, 2007).

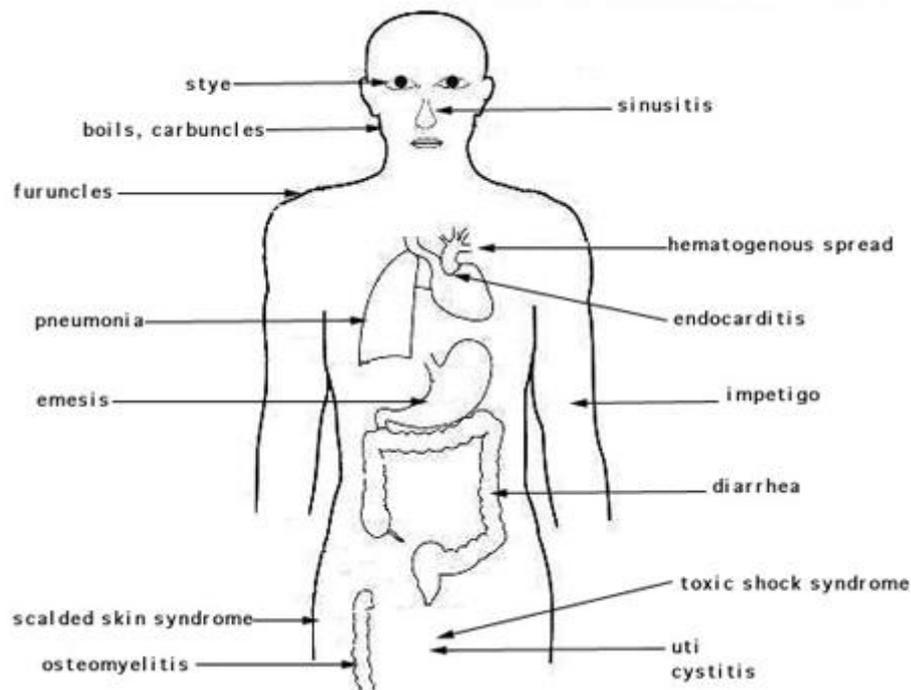


Figure 1.1 : Principales infections humaines causées par les staphylocoques (Wulf *et al.*, 2008)

### 1.2.5. Staphylocoques blancs :

A la différence de *S. aureus*, les staphylocoques « blancs », principalement *S. epidermidis*, font naturellement partie des flores cutané-muqueuses de l'homme (Wright *et al.*, 2005). Ces staphylocoques sont potentiellement pathogènes essentiellement dans certaines circonstances : implantation de corps étrangers (prothèses osseuses ou cardiaques, sondes, cathéters) et/ou déficit immunitaire (SIDA, radiothérapie, chimiothérapie, prématurité). Le matériel implanté peut être contaminé par des souches de la flore cutané-muqueuse du patient ou du personnel soignant (Rohde *et al.*, 2007). Ces bactéries, dès lors considérées comme opportunistes, sont à l'origine d'infections graves (septicémies, endocardites, pyélonéphrites, méningites, ostéomyélites), dont la majorité est des infections nosocomiales.

De la même façon que les souches de *S. aureus*, les espèces de staphylocoques blancs, isolées en milieu hospitalier, sont fréquemment multirésistantes aux ATB (Arciola *et al.*, 2001).

## 1.2.6. Facteurs de virulence de physiopathologie :

### 1.2.6.1. Composants de la paroi :

Les composants de la paroi comme le peptidoglycane, les acides teichoïques et lipoteichoïques possèdent des effets biologiques démontrés *in vitro*, notamment la sécrétion de cytokines par les cellules lymphomonocytaires (**Schijffellen et al., 2010**). Alors que le peptidoglycane est peu immunogène, les acides teichoïques (polymères linéaires du ribitol phosphate) donnent naissance à des anticorps que l'on trouve dans le sérum de malades atteints d'infection récente. Ces acides teichoïques sont les récepteurs de bactériophages (lysotypie des staphylocoques) (**Jensen et Lyon, 2009**).

Des polysaccharides capsulaires sont trouvés chez la majorité des souches (**Loeza et al., 2004**). Cette capsule permet une meilleure résistance des souches à l'opsonisation et à la phagocytose. Certaines produisent un exopolysaccharide (glycocalix) qui entraîne la formation d'un biofilm engluant les bactéries et leur permettant d'adhérer aux surfaces extérieures (**Lozano et al., 2011**). Certaines protéines ou glycoprotéines sont responsables de la spécificité de type. Il existe 14 sérotypes mis en évidence par réaction d'agglutination (**Zmantar et al., 2011**).

### 1.2.6.2. Facteurs d'invasion et d'adhésion :

D'après **Gomez-Sanz et al. (2010)**, *S. aureus* colonise la peau et les muqueuses en adhérant aux cellules et aux composants de la matrice extracellulaire. Il se fixe aux cellules par l'intermédiaire de protéines de surface, les andésines, qui sont ancrées dans le peptidoglycane (**Figure 1.2**). Cinq protéines ont été caractérisées :

- ✓ La protéine A, élaborée uniquement par les souches d'origine humaine, se lie au fragment des immunoglobulines. Elle intervient dans l'opsonisation et la phagocytose.
- ✓ La protéine de liaison au collagène permet l'adhésion de *S. aureus* au cartilage.
- ✓ La protéine de liaison à la fibronectine permet l'adhésion de *S. aureus* aux caillots plasmatiques mais aussi aux biomatériaux (cathéters, prothèses).
- ✓ La protéine de liaison au fibrinogène qui provoque l'agrégation de bactéries en présence de plasma permettant de transformer directement le fibrinogène en fibrine.
- ✓ La protéine de liaison à l'élastine.

### 1.2.6.3. Substance élaborées par *Staphylococcus aureus* :

*Staphylococcus aureus* élabore des protéines diffusibles douées soit d'activité toxique, soit d'activité seulement enzymatique (Fessler *et al.*, 2010).

✓ **Toxines** : Selon Mc Dougall *et al.* (2010), cinq principales toxines sont décrites chez *Staphylococcus aureus* :

- **Les hémolysines** ont une action cytotoxique sur de nombreuses cellules eucaryotes, notamment les globules rouges et les plaquettes. L'hémolysine  $\alpha$ , secrétée par la quasi-totalité des souches de *S. aureus*, est mise en évidence avec des hématies de mouton. La perméabilisation membranaire entraîne une fuite osmotique du contenu cellulaire aboutissant à la mort des cellules. La cytolysse de plaquettes et de monocytes libère des cytokines et d'autres médiateurs de la réaction inflammatoire expliquant le choc septique des infections sévères à *S. aureus*.
- **La leucocidine** agit sur les polynucléaires et les macrophages chez lesquels elle provoque la perte de mobilité, la dégranulation, la destruction nucléaire et la lyse cellulaire. Cette protéine a rôle important dans la formation du pus.
- **L'exfoliatine** est une protéine thermostable responsable des lésions d'érythrodermie bulleuse que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoques et au cours de l'impétigo.
- **Les entérotoxines**, dont il existe 7 sérotypes différents, sont des protéines thermostables responsables d'intoxications alimentaires qui apparaissent 1 à 6 heures après l'ingestion. Des souches de *S. aureus* produisent une entérotoxine. Il s'agit d'une protéine thermostable, insensible aux enzymes protéolytiques du suc digestif.
- **La toxine** responsable du choc toxique staphylococcique (TSST-1): cette protéine antigénique entraîne la formation d'anticorps protecteurs. Cette toxine a un effet pyrogène et entraîne l'activation simultanée de plusieurs sous-populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs responsables de la symptomatologie du choc staphylococcique.

✓ **Enzymes non toxiques** :

- **La coagulase-libre** est une exo-enzyme coagulant le plasma d'homme ou de lapin. C'est une protéine thermostable, toujours produite par les souches de *S. aureus* et non produite par *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. Elle active la prothrombine en thrombine. La thrombine

ainsi activée agit sur le fibrinogène qu'elle transforme en fibrine. C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et en les protégeant de la phagocytose ; elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées.

- **La fibrinolyse** est caractéristique des souches pathogènes humaines. En activant le plasminogène en plasmine, elle provoque la dislocation des caillots endoveineux qui libère des micro-embols septiques, facteurs de septicémie et de localisations septiques secondaires.
- **La désoxyribonucléase (ou DNAses)** sont des facteurs de destruction des noyaux cellulaires. La DNase thermostable est spécifique de *S. aureus*.
- **L'hyaluronidase** est une enzyme thermolabile hydrolysant l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif : elle favorise ainsi la diffusion des staphylocoques dans le tissu conjonctif.
- **La lipase** : la majorité des souches produisent cette enzyme qui semble constituer un facteur de virulence dans les abcès où en modifiant les lipides bactériens, elles favorisent la survie des staphylocoques (**Monecke *et al.*, 2007**).

## 1.3. Antibiotiques

### 1.3.1. Définition :

Un antibiotique (ATB) est une substance naturelle ou synthétique, d'origine microbienne ou dérivée chimiquement, utilisée pour guérir les infections causées par des bactéries. Le mode d'action des ATB permet de tuer les bactéries sensibles (bactéricides) ou d'inhiber leurs développements (bactériostatiques). Il existe des ATB à spectre étroit ou à large spectre, c'est-à-dire qui ciblent une clientèle précise de bactéries ou une large gamme d'espèces (**Martinez et al., 2007**). L'avantage de ces derniers est d'offrir une sécurité au médecin clinicien qui ignore la nature précise de l'agent infectieux. Par contre, les inconvénients principaux sont les coûts plus élevés et le risque de voir apparaître une panoplie de souches résistantes à ces ATB, même chez la flore normale de l'hôte (**Baquero, 2009**).

### 1.3.2. Historique :

Les ATB existent depuis déjà plusieurs décennies. Selon certaines sources, l'origine des ATB remonterait à 1877. Louis Pasteur et Joubert avaient constaté que la présence de certains contaminants bactériens nuisait à la croissance d'autres espèces bactériennes. C'est ce qui a déclenché l'intérêt des microbiologistes à étudier la compétition entre bactéries. Les ATB seraient donc des substances produites initialement par les micro-organismes eux-mêmes afin de se protéger les uns des autres (**Fajardo et al., 2009**).

En fait, un médecin britannique, Alexander Fleming, a découvert en 1928 que la moisissure *Penicillium* exerçait un effet bactéricide sur les bactéries pathogènes, qui ne pouvaient se multiplier en sa présence. Grâce à cette observation importante, la pénicilline fut découverte.

Bien que les sulfamides aient été démontrés bactéricides dès 1935, c'est l'utilisation de la pénicilline, lors de la 2<sup>ème</sup> Guerre mondiale, qui a véritablement lancé l'ère des ATB (**Bruce et al., 2009**). La découverte de la pénicilline a longtemps été considérée comme un miracle de la médecine moderne parce qu'elle a contribué à contrôler de nombreuses maladies d'origine bactérienne. Après plusieurs années d'utilisation des ATB, le Chirurgien Chef des États Unis sonnait en 1969 le glas des maladies infectieuses en affirmant que celles-ci étaient choses du passé.

Force est de constater qu'au début du 3<sup>ème</sup> millénaire, les maladies infectieuses sont de plus en plus présentes et que l'émergence de la résistance antibactérienne contribue aux faillites de traitement ainsi qu'à l'escalade des coûts de santé. Le phénomène de la résistance bactérienne est certes un des plus grands défis que la médecine moderne devra surmonter, sinon nous risquons de retourner à l'ère pré-antibiotique. Fleming avait déjà prévu l'apparition de la résistance des bactéries à la pénicilline. Depuis son époque, plusieurs recherches ont été entreprises afin d'accroître le nombre

de nouveaux ATB et de diversifier les cibles bactériennes visées par ces produits. Entre 1945 et 1980, plusieurs catégories d'ATB ont vu le jour, chacun de ces produits s'avérant très efficace. La création de nouveaux ATB s'est par contre arrêtée entre 1980 et 1990 puisque des centaines de ces produits existaient (**Gaudy et Buxeraud, 2005**).

### 1.3.3. Différentes familles :

Les principales familles d'ATB, mécanisme d'action et leur mode de résistance sont rapportés en **Annexe 1 (Petignat, 2005)**.

### 1.3.4. Résistance bactérienne aux antibiotiques

Pour être efficace, un ATB doit pénétrer dans la bactérie, sans être détruit ni être modifié, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne. Un ATB peut être caractérisé par son spectre d'action (**Jehl et al., 2003**). Depuis l'émergence de nouvelles molécules d'ATB dans la thérapeutique, on constate que beaucoup de bactéries, appartenant au spectre d'action d'un ATB, ne sont plus sensibles à ce dernier (**Baquero, 2009**).

#### 1.3.4.1. Types de résistance :

- ✓ **Les résistances naturelles** : leur mécanisme sur le génome bactérien est constant dans un taxon et est généralement chromosomique. Elles correspondent à la résistance de toutes les souches d'une même espèce bactérienne à un ATB. Elles sont dues soit à une absence de cible soit à une imperméabilité de la paroi à cet ATB.
- ✓ **Les résistances acquises** : dues à des modifications génétiques, chromosomiques ou plasmidiques. Elles ne concernent que quelques souches, d'une même espèce, normalement sensibles à un ATB donné (**Davis et al., 2007**).

#### 1.3.4.2. Mécanisme d'apparition des résistances :

Il existe deux mécanismes :

- **La transmission verticale** : lorsque les conditions de vie deviennent désagréables, la bactérie peut muter et transmettre à sa descendance la résistance.
- **La transmission horizontale** : les bactéries peuvent être parasitées par des virus dont l'ADN code une multirésistance aux ATB. Elle est responsable de la majorité des résistances (**AFSSA, 2006**).

### 1.3.4.3. Résistances mutationnelles ou mutations chromosomiques :

Elles sont dues aux mutations de gènes existants :

- ✓ **Spontanées** : elles existent avant l'utilisation d'ATB et ne sont donc pas provoquées par sa présence.
- ✓ **Stables** : elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien.
- ✓ **Spécifiques** : elles ne concernent qu'un seul ATB ou qu'une famille d'antibiotiques. Dans ce cas, la résistance à un ATB peut aboutir à une résistance croisée pour des ATB appartenant à une même famille (**Giguere et al., 2007**).

### 1.3.4.4. Évolution de la résistance :

Le développement des résistances est progressif. En dehors du transfert génétique direct qui peut donner rapidement un haut niveau de résistance, le développement de la résistance passe par un remodellement des bactéries qui s'effectue de manière étalée dans le temps (**Neely et Holder, 1999**). Une bactérie résistante à un ATB devient souvent résistante à plusieurs. Deux phénomènes contribuent à la multi-résistance aux ATB : la résistance croisée et la co-résistance.

Les auteurs définissent la résistance croisée comme un phénomène par lequel une bactérie, qui a développé une résistance à l'un des ATB d'une classe, devient aussi résistante aux autres membres de la même classe. Cela même si elle n'a jamais été exposée à ces molécules. C'est cette résistance croisée qui permet aux  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE), présentes chez les bactéries Gram négatifs, d'avoir une résistance si étendue ( $\beta$ -lactamines et céphalosporines) à tel point qu'elles deviennent un véritable enjeu en santé humaine.

La co-résistance est liée au fait que les gènes de résistance à différentes classes d'ATB sont souvent portés par le même plasmide. Par exemple, pour *E. coli*, un seul plasmide régule la sensibilité aux céphalosporines, pénicillines, tétracycline et fluoroquinolones. Ainsi, l'acquisition d'une résistance à l'une de ces molécules, entraîne une résistance aux autres familles (**Giguere et al., 2007**).

Néanmoins, une fois la résistance apparue, il est difficile de s'en débarrasser car le pouvoir de diffusion est important. En effet, les gènes de résistance sont conservés et évoluent dans la population bactérienne leur permettant une adaptation rapide à un nouvel hôte. De plus, les mutations de ces gènes peuvent les conduire à devenir encore plus résistant (**Perrin, 2012**).

---

## Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODES

---

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire de Bactériologie de l'Établissement Public Hospitalier (EPH) de Koléa (wilaya de Tipaza), durant une période de 04 mois (Mai-Août 2014). L'objectif de notre travail consiste à rechercher et identifier les espèces appartenant au genre *Staphylococcus* isolées principalement des prélèvements purulents, urinaires ou encore ceux destinés à l'hémoculture. Ces prélèvements ont été diagnostiqués dans les différents services de l'EPH Koléa : services de médecine interne, de pédiatrie et de chirurgie. Aussi, des prélèvements de patients auscultés à titre externe ont été obtenus.

En fonction des résultats de la coloration de Gram, le prélèvement a été ensemencé sur un milieu Chapman. L'identification de l'espèce a été faite en se basant sur les caractères morphologiques, culturels et biochimiques. Par la suite, un antibiogramme, par la méthode de diffusion de disque sur gélose Mueller-Hinton (MH), a été réalisé sur chaque espèce bactérienne. Les disques utilisés proviennent du laboratoire bio-Mérieux (France). La lecture et l'interprétation des résultats ont été faites selon les règles et les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (Bonnet *et al.*, 2012). L'objectif principal de cette étude était d'estimer la prévalence des staphylocoques ainsi que leur profil d'antibiorésistance.

### 2.1. Matériel :

#### 2.1.1. Matériel non biologique et appareillage :

La liste de tous les instruments et appareillages utilisés a été rapportée en **Annexe 2**.

#### 2.1.2. Milieux de culture et solutions de coloration :

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés lors de notre étude. Nous citerons la gélose nutritive (GN), gélose Muller-Hinton (MH) ou encore le milieu Chapman. Tous ces milieux de culture proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger (IPA). La composition chimique de ces milieux de culture a été détaillée en **Annexe 2**.

Concernant les solutions de colorations utilisées, nous citerons le violet de gentiane, lugol, fuchsine et alcool (70°). Toutes ces solutions ont été utilisées pour la réalisation de la coloration de Gram des bactéries isolées.

## 2.2. Méthodes :

### 2.2.1. Technique de prélèvement :

#### 2.2.1.1. Prélèvement des urines pour l'examen cytobactériologique des urines :

Lors des prélèvements urinaires, nous avons utilisé des tubes en verre stériles et fermés hermétiquement. Ces flacons ont été fournis par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital. De plus et pour chaque prélèvement, une fiche de renseignement a été remplie. Dans cette dernière, les informations concernant le nom du patient et son âge, la date et l'heure du prélèvement ainsi qu'une éventuelle prise de traitements (antibiotiques, corticoïdes, immunodépresseurs ou autres) ont été notés. Tous les prélèvements urinaires se font selon les recommandations émises par **Grinfeld (1999)**. A titre d'exemple, chez l'adulte, après une désinfection très soignée du méat urinaire, les urines du matin ont été recueillies, de préférence, en éliminant la première partie de miction. Par contre et chez le petit enfant, une poche collectrice a été appliquée .

#### 2.2.1.2. Prélèvement de pus à partir de plaies infectées :

La procédure utilisée pour ce genre de prélèvement était celle décrite par **Williams et al. (2004)**. La façon de procéder dépend de la nature et de la localisation de suppuration.

Dans le cas d'un prélèvement d'un pus sur peau saine et non suintante ou une plaie aigue chronique, la plaie et la peau doivent être désinfectés à l'alcool iodé. Tous les exsudats doivent être éliminés à l'aide d'une compresse stérile et de sérum physiologique stérile. Ensuite nous imbibons la partie cotonnée de l'écouvillon, de sérum physiologique, qui sera appliqué en effectuant plusieurs rotations au niveau de la suppuration sans toucher la peau saine. Enfin, nous capuchonnons l'écouvillon qui sera transporter par la suite au laboratoire. Au total, deux écouvillons seront utilisés lors de ce prélèvement. L'un servira pour l'examen microscopique (coloration de Gram et état frais) alors que le second sera exploité pour l'ensemencement de plusieurs milieux gélosés, y compris le milieu Chapman.

Lorsqu'il s'agit d'un abcès superficiel fermé ou d'une plaie profonde, le prélèvement a été fait à l'aide d'une seringue dont l'aiguille sera introduite dans le foyer infectieux pour aspirer le pus à travers la peau. Si le volume du prélèvement est faible, nous ajoutons quelques gouttes de sérum physiologique stérile à l'aiguille et nous déchargeons le contenu de la seringue dans un tube à essai.

### 2.2.1.3. Prélèvement du sang destiné à l'hémoculture :

Le choix du moment du prélèvement se fait en cas de pic fébrile ou d'hypothermie ou encore après une fenêtre thérapeutique de 24 heures à 72 heures.

après chaque prélèvement destiné à l'hémoculture, de préparer un flacon pour l'incuber en aérobiose. Le bouillon de ce dernier est composé d'un poly anéthol sulfonâtes de sodium (SPS).

Le flacon d'hémoculture sera rempli avec 8 à 10 ml de sang pour un adulte, ou avec 2 à 5 ml pour un enfant. Une fois le remplissage terminé, les flacons seront agités par retournement et seront acheminés au laboratoire dans un délai ne dépassant pas 2 heures.

### 2.2.2. Examen macroscopique :

Cet examen donne des informations importantes. Il consiste à observer à l'œil nu:

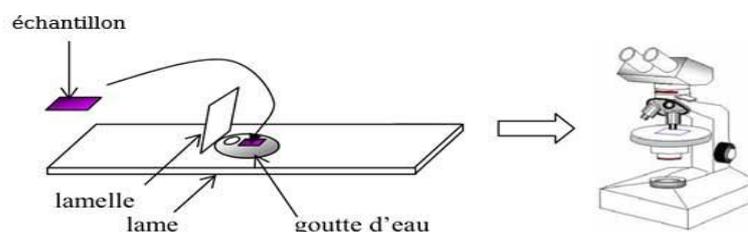
- **Couleur** : du pus ou de l'urine va du jaune foncé au rouge brun. Une couleur rouge est due à un mélange avec le sang ou de l'hémoglobine.
- **Consistance** : elle peut aller d'un liquide trouble pour l'urine et l'hémoculture, une matière très épaisse et collante pour le pus.

### 2.2.3. Examen microscopique :

C'est un examen cytologique direct (**Figure 2.1**) qui permet de détecter la morphologie et la mobilité des bactéries. Les techniques utilisées sont :

#### ✓ **État frais :**

- **Principe** : Elle permet l'observation des bactéries vivantes en absence de toute fixation ou coloration. L'examen a pour but de déterminer la morphologie des bactéries, leur mode de regroupement et de savoir si elles sont mobiles ou non (**Diensaert, 2005**).



**Figure 2.1.** Examen cyto-bactériologique direct (**Diensaert, 2005**).

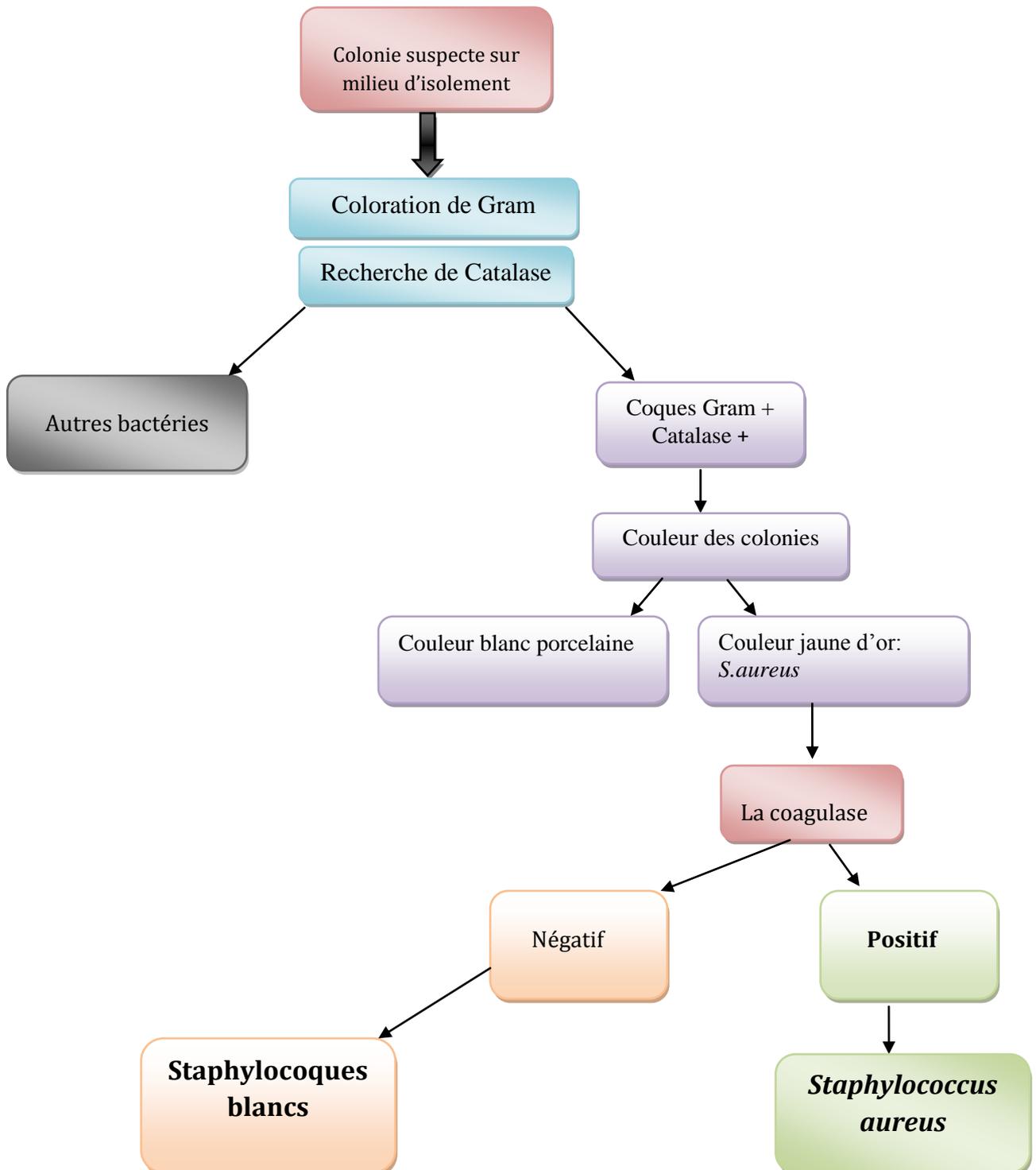
- **Technique** : Une fois la suspension bactérienne a été préparée, nous déposons une goutte de celle-ci sur une lame de verre et la recouvrons avec une lamelle couvre objet. L'observation se fera au microscope au grossissement x40.

- **Lecture** : Nous pouvons observer sous microscope photonique les éléments suivants :

- Leucocytes : la pénétration des germes dans le corps stimule le système immunitaire d'où l'intervention des leucocytes.
- Hématies : la présence des hématies signifie une mauvaise condition de prélèvement.

#### 2.2.4. Recherche et isolement des staphylocoques :

Cette recherche a été effectuée selon le protocole décrit par **Leyral *et al.* (2003)** (Figure 2.2).



**Figure 2.2.** Organigramme résumant les étapes de la recherche et l'identification des Staphylocoques (Leyral *et al.*, 2003).

#### 2.2.4.1. Mise en culture :

Après l'examen microscopique, chaque prélèvement est mis en culture sur milieu gélosé approprié.

##### 2.2.4.1.1. Examen bactériologique des urines :

- **Principe :** Permet la mise en culture, l'énumération et l'isolement des staphylocoques présents dans l'urine.
- **Technique :** Pour l'examen bactériologique des urines, nous avons utilisé la méthode de Kass modifiée. Pour cela, nous prenons 10µl d'urine fraîche grâce à la micropipette et la plongeons dans un tube contenant 100µl d'eau distillée stérile puis nous homogénéisons à l'aide d'un agitateur avec la densité 0.5 Mac Ferland. Par la suite, nous prenons une goutte de mélange et la déposons sur la boîte de Pétri qui contient une GN. L'ensemencement se fait par un râteau et l'incubation se fera à 37 °C pendant 18h à 24 h.
- **Lecture :** la culture est considérée positive s'il y a présence de plus de 100 colonies morphologiquement semblables.

##### 2.2.4.1.2. Examen bactériologique du pus :

- **Principe :** Permet la mise en culture et l'isolement des staphylocoques présents dans les pus.
- **Technique :** La mise en culture consiste à mettre l'eau distillée dans le couvre de l'écouvillon pour l'humidifier. Après homogénéisation du mélange, une goutte sera déposée sur le milieu gélosé, en l'occurrence le milieu Chapman. L'ensemencement se fait en stries serrées par pipette Pasteur alors que l'incubation de la boîte sera réalisée dans l'étuve à 37°C pendant 18h à 24h.
- **Lecture :** Si la culture est positive, nous procédons à l'isolement, l'identification et la réalisation de l'antibiogramme de la souche isolée.

##### 2.2.4.1.3. Hémoculture :

- **Principe :** La mise en culture des germes présents dans le sang.
- **Technique :** agiter bien le mélange d'hémoculture, nous prenons une quantité de ce dernier à l'aide d'une seringue et mettre deux gouttes dans le milieu Chapman puis, nous ensemencons par des stries, l'incubation sera fait a 37°C pendant 18h à 24h.

##### 2.2.4.2. Identification des espèces du genre *Staphylococcus* :

Après 24h d'incubation sur milieu Chapman, des colonies individuelles et morphologiquement semblables, issues des cultures bactériennes positives, feront l'objet d'une identification par des tests de coloration et des tests biochimiques.

### 2.2.4.2.1. Coloration de Gram :

- **Principe :** C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer.
- **Technique :** la méthodologie utilisée était celle adoptée par **Ganter et Jolles (1970)**. Les étapes suivies dans cette technique se résument à :
  - 1<sup>ère</sup> étape : préparation de frottis : sur une lame, nous déposons une goutte d'eau stérile ou directement le prélèvement s'il est liquide. Ensuite nous ajoutons une goutte de la colonie isolée qui sera étalée et fixée à la chaleur.
  - 2<sup>ème</sup> étape : nous réalisons la coloration du frottis. D'abord, nous effectuons une coloration par le violet de gentiane et laissons agir pendant 2 min. ensuite nous rinçons à l'eau courante et recouvrons le frottis par la solution de lugol et laissons agir pendant 30 secondes. Une décoloration à l'alcool sera faite rapidement (15 secondes) suivie par un rinçage. Enfin, une recoloration à la fushine sera effectuée pour une durée d'une minute suivie par un rinçage à l'eau et séchage de la lame. L'observation se fait à l'aide d'une goutte d'huile à immersion (Gx10 puis Gx40).
- **Lecture :** la présence de bactérie en violet (Gram+), ou en rose fuchsine (Gram-).

### 2.2.4.2.2. Tests biochimique :

#### 2.2.4.2.2.1. Recherche de la catalase :

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



- **Technique :** A partir d'un milieu solide et aérobie, nous avons prélevé une quantité suffisante de culture et la mettons en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.
- **Lecture :** La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d' $O_2$ .

#### 2.2.4.2.2.2. Test de Staphaurex :

- **Principe :** C'est un test d'agglutination sur lame permettant l'identification rapide des souches de *S. aureus*, prêt à l'emploi et fiable à interpréter avec des résultats en une minute. Des particules de latex rouge sont sensibilisées par des protéines : fibrogène et Ig G humaines (**Dupouy-Camet, 2002**).
- **Technique :** Sur le papier Staphaurex , nous rajoutons une goutte de latex rouge en prenant une colonie bactérienne et la déposons sur la solution du latex rouge et nous mélangeons .

- **Lecture :** Après une minute, si la solution s'agglutine, nous pouvons déduire qu'il s'agit de *S.aureus*.

#### 2.2.4.2.2.3. Identification biochimique par Mini-galerie classique :

Afin de mener une identification biochimique de l'espèce staphylococcique, nous avons utilisé plusieurs tests biochimiques ainsi que plusieurs milieux de culture (**Annexe 2**).

##### - Milieu Tri Sugar Iron (TSI) :

- **Principe :** La gélose TSI permet l'identification des staphylocoques par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène (**Medouakh et al., 2006**).
- **Technique :** A partir d'une colonie suspecte prélevée sur un milieu d'isolement sélectif, nous ensemençons le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées. L'incubation se fait à 37°C pendant de 18h à 24 heures.
- **Lecture :** La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux. La fermentation de glucose si le culot vire au jaune. La fermentation du lactose et du saccharose si la pente inclinée devient jaune. S'il y a production de gaz dans le culot nous déduisons que la bactérie est gazogène. Enfin, la formation de l'anhydride sulfureux se traduit par la formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

##### - Recherche du nitrate réductase :

- **Principe :** Cette technique se fait à l'aide d'un bouillon nitraté permettant la recherche de l'utilisation de l'ion nitrate par certains micro-organismes, notamment par respiration nitrate (**Dellaras, 2007**).
- **Technique :** Le test consiste à rajouter une goutte de suspension bactérienne, de densité de 0.5 Mac Ferland, au milieu de nitrate réductase. L'incubation se fait à 37°C pendant de 18h à 24 heures.
- **Lecture :** Après avoir vérifié la présence de culture, les réactifs Nitrites 1 et 2 seront rajoutés.
  - Une coloration rouge signe la présence de nitrites : bactérie nitrate réductase + (stade nitrites).
  - En cas de milieu incolore, nous ajoutons du zinc (réducteur des nitrates) et attendons quelques minutes. Une coloration rouge montre la présence de nitrites : la bactérie est Nitrate Réductase -.Par contre une absence de coloration montre l'absence de nitrates : la bactérie les a réduits en azote (il n'y en a plus dans le milieu pour que le zinc les réduisent), la bactérie est Nitrate Réductase+, stade diazote (N<sub>2</sub>).

- **Recherche de la fermentation du Mannitol :**

- **Principe :** Le Mannitol-Mobilité est un milieu de culture caractérisé par l'utilisation de mannitol et permet la mise en évidence ou pas de la mobilité bactérienne (**Padron et Dockstader, 1972**).
- **Technique :** Une colonie caractéristique du milieu Chapman sera ensemencée par piqûre centrale, sur milieu Mannitol-mobilité, à l'aide de pipette Pasteur. L'incubation du milieu se fait à 37°C pendant de 18h à 24 heures.
- **Lecture :** elle s'effectue comme suit :
  - Pas de dégradation du mannitol : pas de virage de couleur ;
  - Dégradation du mannitol : virage de milieu en jaune ;
  - Bactérie non mobile : colonies au lieu de l'ensemencement ;
  - Bactérie mobile : apparition des colonies dans le milieu.

- **Recherche des enzymes de dégradation des acides aminés (LDC, ODC, ADH) :**

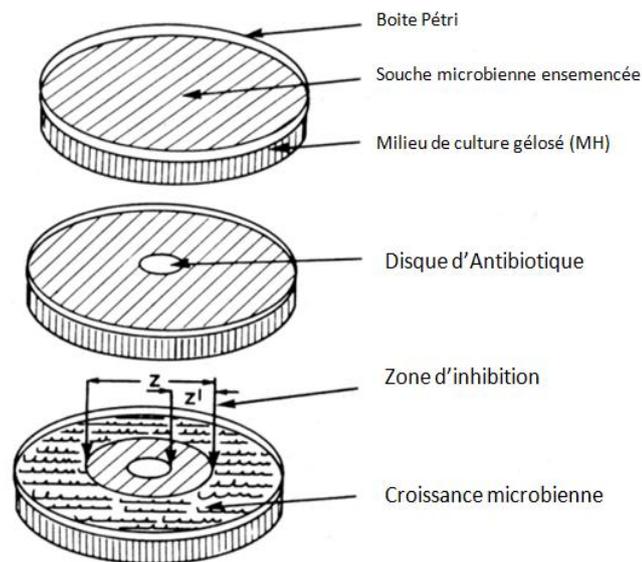
- **Technique :** Trois de ces enzymes ont un grand intérêt pour l'identification bactérienne. Ce test se fait en rajoutant une colonie caractéristique du milieu Chapman et la déposer dans les 3 milieux Falkow. Par la suite, une quantité d'huile de vaseline sera rajoutée pour créer une atmosphère d'anaérobiose. L'incubation se fait à 37°C pendant de 18h à 24 heures.
- **Lecture :** Résultat positif : la couleur rester violet (le germe dégrade au début le glucose qui fait virer le milieu au jaune, ensuite il y aura dégradation des acides aminés ce qui fait virer la couleur à nouveau vers le violet).

- **Recherche de l'enzyme Staphylocoagulase :**

- **Principe :** La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable ; la staphylocoagulase ou coagulase. Cette dernière agit en liaison avec la prothrombine et en absence de calcium (**Fang et al., 2003**).
- **Technique :** Nous prenons trois tubes secs en rajoutant du plasma humain. Dans un tube nous rajoutons une colonie bactérienne de la souche isolée, dans le second tube nous rajoutons une colonie bactérienne de la souche *S.aureus* ATCC 25923 (témoin positif) alors que dans le dernier tube aucune souche ne sera rajoutée (témoin négatif). L'incubation se fait à 37°C pendant de 18h à 24 heures alors que l'observation sera toutes les heures jusqu'à 4 heures.
- **Lecture :** Si le résultat est positif, il y aura alors une coagulation du plasma.

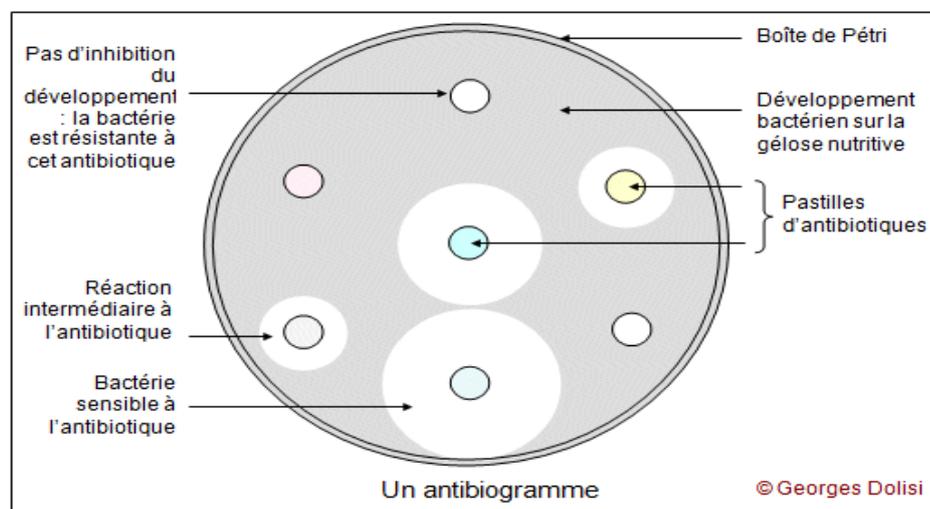
### 2.2.4.2.3. Antibiogramme :

▪ **Technique :** Une suspension bactérienne sera préparée en prélevant des colonies pures et les déposer dans l'eau distillée stérile. Après agitation, le tube sera mis dans un densitomètre afin d'obtenir une suspension de densité 0.5 Mac Ferland. Un écouvillon stérile sera trempé dans la suspension bactérienne et l'excès sera enlevé par pression sur les bords du tube. Cet écouvillon sera ensemencé régulièrement sur un milieu gélosé de MH, en prenant soin de tourner la boîte Pétri de 60 °jusqu'à ensemencement de la totalité de la surface. Par la suite, les disques d'ATB (**Tableau 2.1**) seront déposés sur le fond de la boîte, en prenant soin de les éloigner, au minimum, de 1 cm du bord. L'incubation se fait à 37°C pendant de 18h à 24 heures (**Figure 2.3**).



**Figure 2.3 :** Technique de l'antibiogramme (**Zaika, 1989**).

▪ **Lecture :** se fait en mesurant les diamètres des zones d'inhibition à l'aide de pied à coulisse. Les résultats obtenus seront comparés à ceux des valeurs critiques établies par le Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).



**Figure 2.4.** Lecture de l'antibiogramme (**CA-SFM, 2003**)

**Tableau 2.1** : La liste des antibiotiques testés pour les staphylocoques.

Antibiotiques	Abréviations	Doses ( $\mu\text{g}$ )
Pénicilline	P	6
Oxacilline	OXA	5
Vancomycine	V	30
Clindamycine	DE	2
Chloramphénicol	C	30
Gentamycine	GM	10
Érythromycine	E	15
Kanamycine	K	30
Pristinamycine	PT	15
Cotrimoxazole	SXT	15
Tétracycline	Tétra	30

- **Recherche de la béta-Lactamase par le test de trèfle :**

La recherche de la  $\beta$ -Lactamase pour toute souche présentant un diamètre à la pénicilline  $\leq 28$  mm (OMS., 2005).

▪ **Technique :** La souche de *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la pénicilline (témoin négatif) est ensemencée sur gélose MH. Ensuite, un disque de pénicilline G sera déposé au centre du milieu gélosé. Encore une fois, cette même souche sera ensemencée, par des stries radiales centrales, sur cette même boîte allant du centre vers la périphérie. De la même manière sera ensemencée la souche *S. aureus* ATCC 43300 résistante de la pénicilline (témoin positif) et la souche à tester. L'incubation se fait à 37°C pendant de 18h à 24 heures (Dagnara *et al.*, 2004).

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

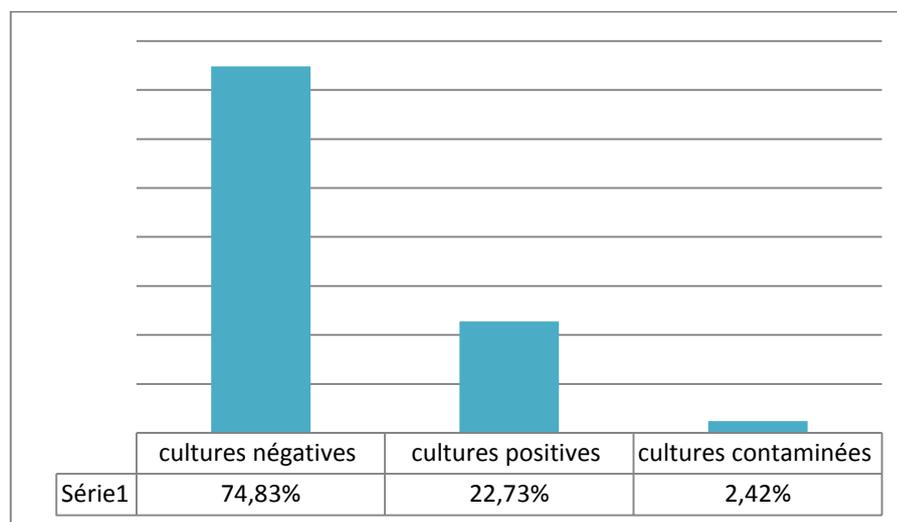
## Chapitre 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. Analyses microbiologiques des prélèvements

Lors de notre étude, trois types de prélèvement ont été analysés, à savoir les prélèvements urinaires, purulents et ceux destinés à l'hémoculture. L'analyse bactériologique de tous ces prélèvements s'est axée sur la recherche, l'isolement ainsi que l'identification des souches appartenant au genre *Staphylococcus*. Cette démarche du diagnostic bactériologique a été menée en suivant plusieurs étapes (examens macro et microscopique, identification biochimique).

#### 3.1.1. Fréquence des prélèvements après culture :

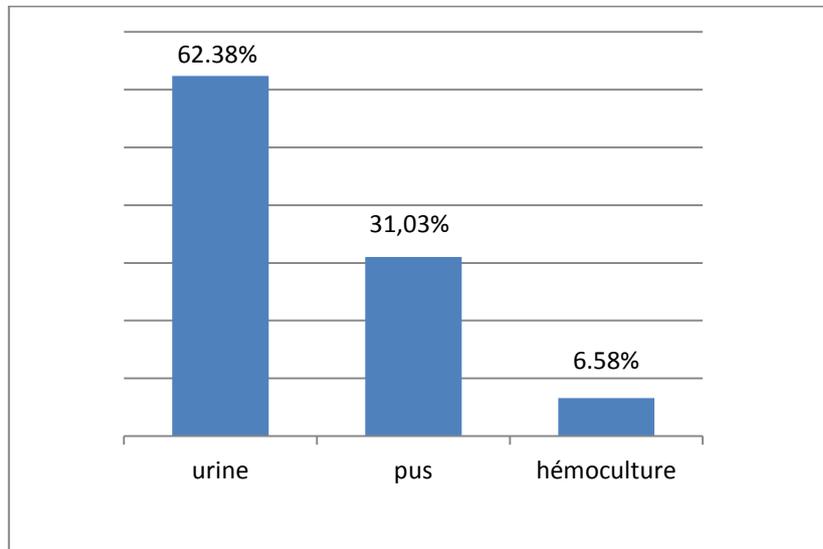
Sur un total de 1403 prélèvements analysés au laboratoire, une grande majorité (74.83%) a été déclarée exempte de toutes contaminations microbiennes (**Figure 3.1**). Par ailleurs, les cultures retrouvées positives représentent une fréquence de 22.73% alors qu'un faible taux (2.42%) a été enregistré comme étant des cultures contaminées. Ce faible nombre témoigne du respect des conditions d'asepsie lors de l'analyse bactériologique.



**Figure 3.1.** Fréquence des prélèvements selon la positivité de la culture.

#### 3.1.2. Répartition des cultures positives selon le prélèvement :

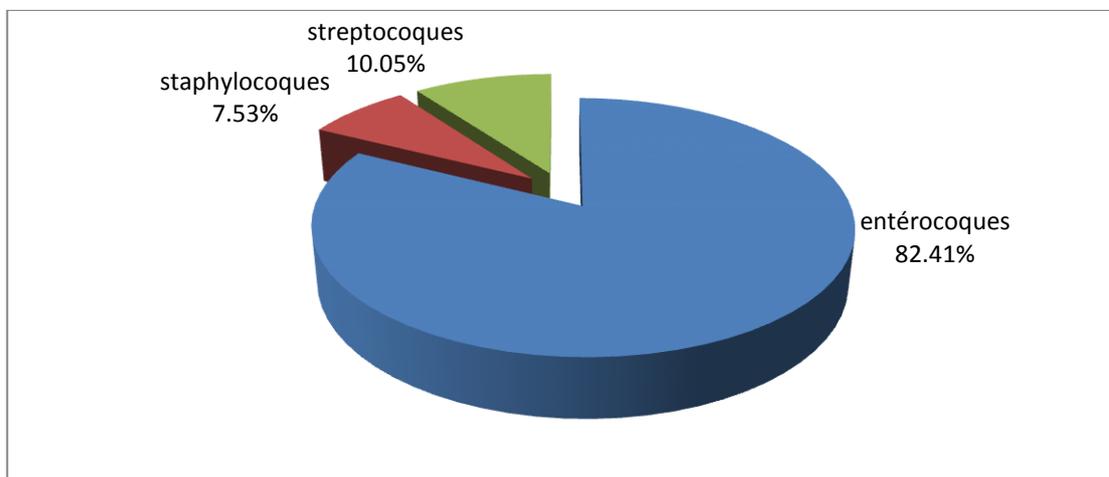
Au total, 319 prélèvements ont été déclarés comme présentant une croissance microbienne. La majorité sont issus de prélèvements urinaires (**Figure 3.2**), soit un nombre de 119 ce qui représente un taux de 62.38%, suivi par les prélèvements purulents avec un taux de 31.03% et, enfin, les prélèvements sanguins qui ne représentaient que 21 cas soit un taux de 06.58%.



**Figure 3.2.** Répartition des cultures positives selon le type de prélèvement.

### 3.1.3. Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements urinaires :

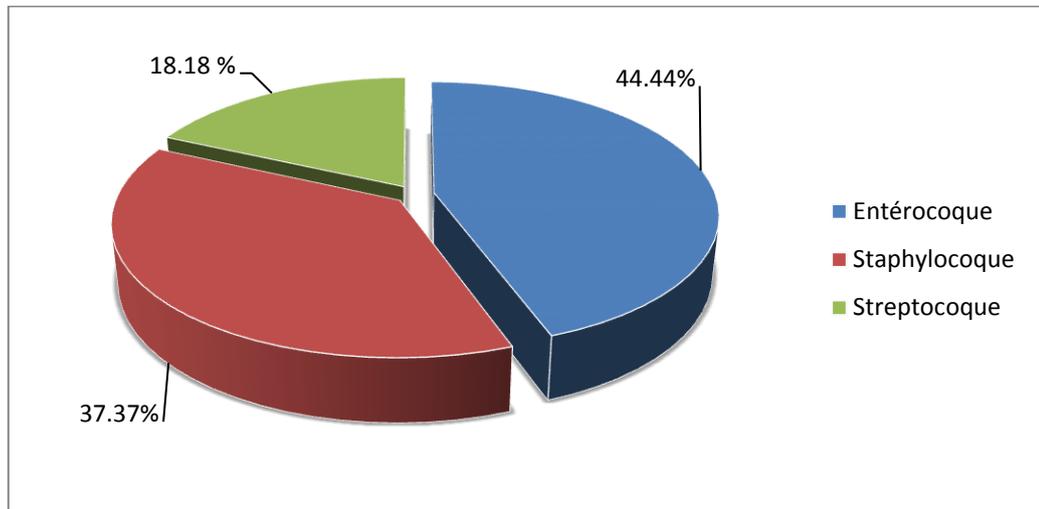
Lors de notre étude concernant les prélèvements urinaires (**Figure 3.3**), nous avons noté que les espèces du genre *Staphylococcus* occupent la 3<sup>ème</sup> position en termes de prévalence avec un taux de 7.53%, juste après les streptocoques (10.05%) et les entérocoques qui dominent largement avec 82.41%. Ces taux ont été calculés uniquement pour les cocci à Gram + et catalase +. Les autres germes n'ont pas été inclus dans cette étude.



**Figures 3.3 :** Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements urinaires.

### 3.1.4. Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements purulents :

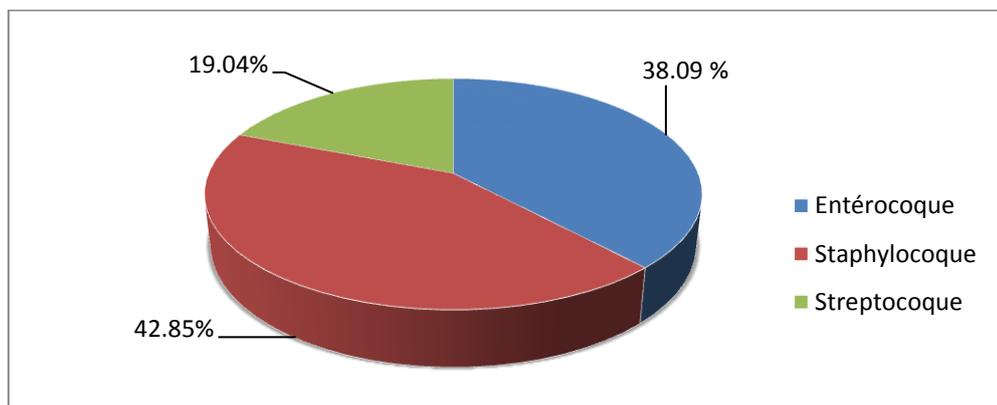
Concernant l'examen cyto bactériologique du pus, nous avons noté que les staphylocoques sont incriminés dans les infections humaines avec une fréquence de 37.37% (**Figure 3.4**). Les entérocoques arrivent en première position car ils ont été isolés dans 44.44% de cas.



**Figure 3.4.** Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements purulents.

### 3.1.5. Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements sanguins :

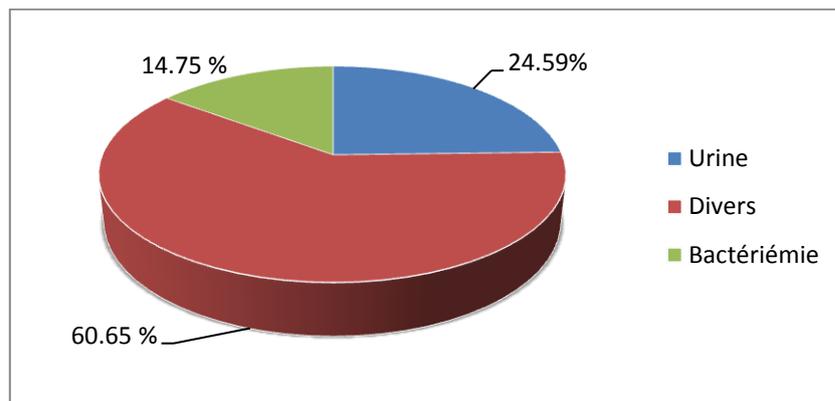
Au cours de notre étude, des prélèvements sanguins ont été effectués pour hémoculture afin de confirmer la présence d'une septicémie et la nature du germe à incriminer. Les résultats de cette analyse bactériologique révèlent que les espèces staphylococciques sont prédominantes du moment qu'elles ont été incriminées dans 42.85% des cas, suivies par les entérocoques et les streptocoques (**Figure 3.5**). A noter que dans notre étude, nous avons tenu en considération uniquement les cocci à Gram + et catalase +. Les bacilles à Gram – et les anaérobies n'ont pas été inclus car ne faisant pas l'objet de notre travail.



**Figure 3.5 :** Prévalence des staphylocoques dans les prélèvements sanguins.

### 3.1.6. Fréquence des staphylocoques dans tous les prélèvements :

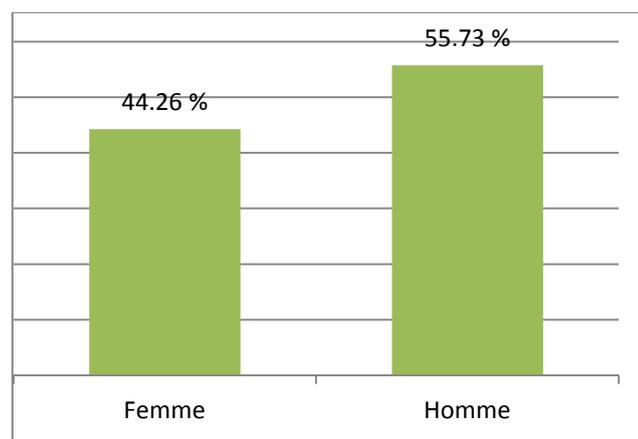
Après avoir effectués les examens cyto bactériologique des pus et des urines ainsi que les hémocultures, il en ressort que les souches staphylococciques ont été incriminées dans 61 de cas des infections humaines. Ces souches ont été trouvées prédominantes dans les prélèvements purulents des plaies (superficielles ou profondes) avec un taux de 60.65%, suivis par les prélèvements urinaires et enfin ceux destinés à l'hémoculture (**Figure 3.6**).



**Figure 3.6 :** Fréquence des staphylocoques dans tous les prélèvements.

### 3.1.7. Répartition des staphylocoques selon le sexe :

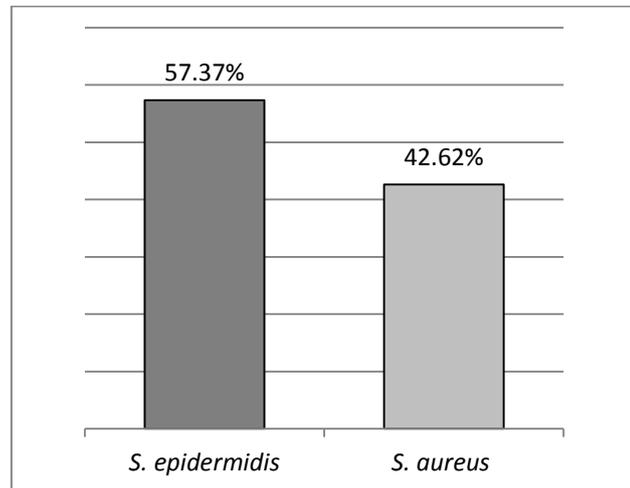
Nous rapportons, dans la **Figure 3.7**, les résultats de la répartition des staphylocoques isolés selon le sexe du patient. Il en ressort de ces résultats que le nombre des staphylocoques isolés des prélèvements analysés est presque similaire chez les deux sexes, avec néanmoins une légère prédominance masculine (55.73%). Le sex-ratio est de 0.79.



**Figure 3.7 :** Répartition des staphylocoques isolés selon le sexe.

### 3.1.8. Répartition des staphylocoques selon l'espèce isolée :

Une fois les colonies présumées de staphylocoques ont été isolées sur milieu Chapman, une identification morphologique et biochimique s'en ait alors suivie afin de déterminer l'espèce bactérienne incriminée. Les résultats de cette analyse bactériologique sont rapportés dans la **Figure 3.8**. Il apparait clairement que les isolats de *Staphylococcus epidermidis* sont ceux qui ont été le plus souvent isolés avec un taux de 57.37%, alors que les staphylocoques pathogènes, représentés par la souche de *S. aureus*, ont été incriminés dans 42.62% des cas.



**Figure 3.8 :** Répartition des staphylocoques selon l'espèce isolée.

En effet, l'espèce de *S. aureus* a pour capacité de dégrader le mannitol du milieu Chapman (**Figure 3.9**) et la réduction du nitrate. Elle se caractérise par la fermentation de glucose, de lactose et de saccharose. Elle a aussi un caractère pathogène qui permet de coaguler le sérum humain. Par ailleurs, *S. epidermidis* se caractérise par l'absence de la coagulase et la non dégradation du mannitol (**Tableau 3.1**).

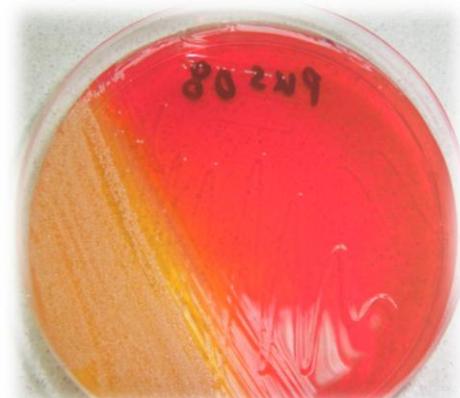
**Tableau 3.1 :** Principaux caractères biochimiques des staphylocoques isolés.

Espèce	TSI	Nitrate réductase	Mannitol	ADH	Coagulase
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+
<i>S. epidermidis</i>	+	+	-	-	-

TSI : Tri Sugar Iron ; ADH : Arginine Dihydrolase ; (+) Réaction positive ; (-) réaction négative.



*Staphylococcus epidermidis*



*Staphylococcus aureus*

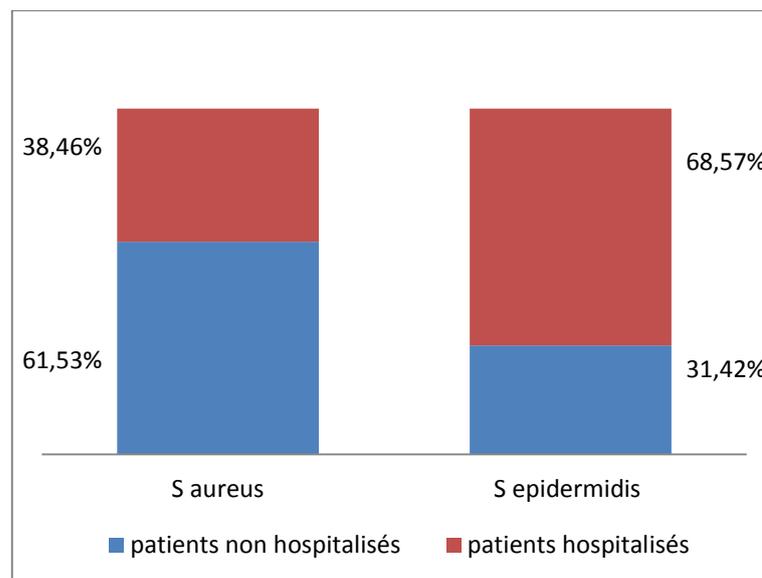
**Figure 3.9.** Isolement des souches staphylococciques sur milieu Chapman (**Originale, 2014**).

### 3.1.9. Répartition des espèces de staphylocoques selon les services :

Eu égard des résultats rapportés dans le (Tableau 3.2), il apparaît clairement les staphylocoques pathogènes ont été les plus incriminés dans les infections communautaires du moment que 16 prélèvements positifs ont été enregistrés. En revanche et concernant les prélèvements provenant de patients hospitalisés, c'est principalement les Staphylocoques Coagulase Négative (SCN) (*S. epidermidis*) qui ont été retrouvés avec une fréquence élevée (24 cas). Ceci pourra être expliqué par le fait que certains patients ont été déjà soumis à une antibiothérapie, notamment pour les prélèvements des patients présentant une septicémie. Cette antibiothérapie est à l'origine de la réduction des isolats staphylococciques pathogènes ; uniquement les germes saprophytes pourront alors être cultivés.

**Tableau 3.2.** Répartition des espèces de staphylocoques selon le type d'infection.

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
<b>Patient non hospitalisés</b>	16	11
<b>Patients hospitalisés</b>	10	24
<b>Total</b>	26	35



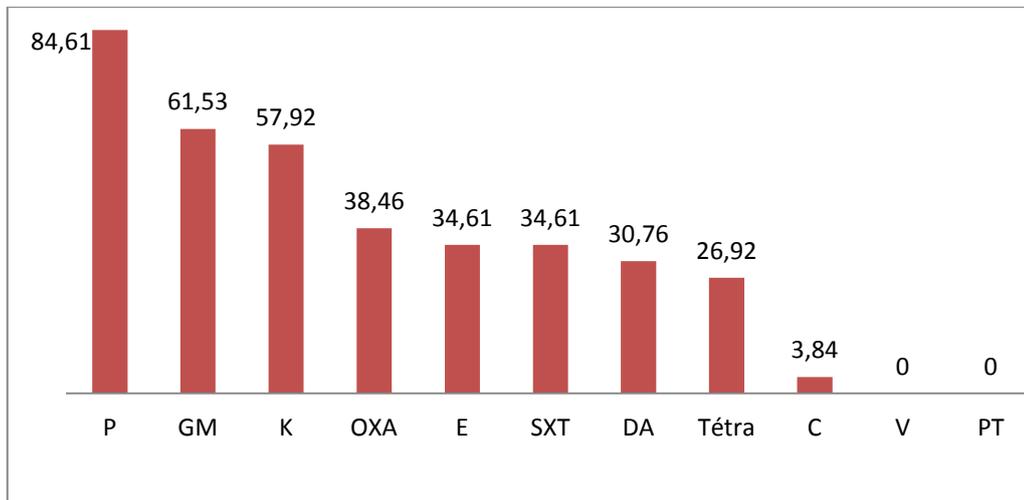
**Figure 3.10.** Répartition des espèces staphylococciques selon la provenance des prélèvements.

## 3.2. Antibiorésistance des souches staphylococciques isolées

Une fois les étapes d'isolement et d'identification des souches staphylococciques ont été terminées, une étude du profil d'antibiorésistance de ces isolats a été effectuée en utilisant la technique de diffusion à partir de disque selon les recommandations émises par le Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

### 3.2.1. Profil de résistance des *Staphylococcus aureus* :

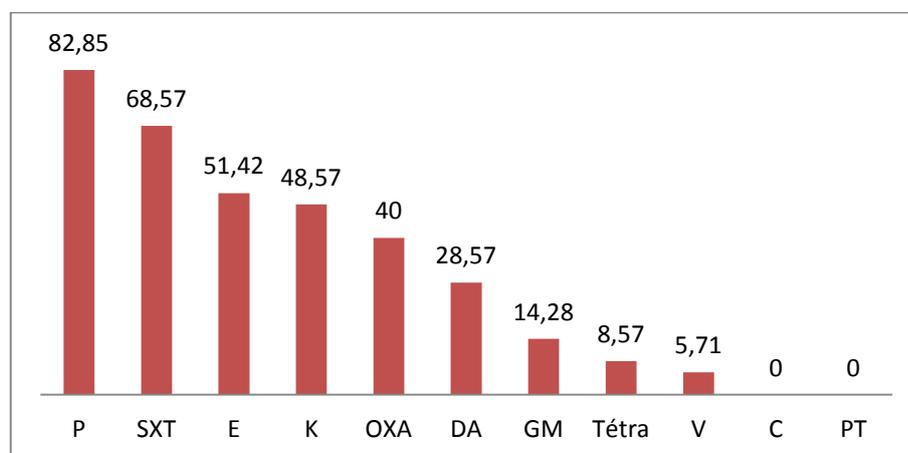
Toutes les souches de *S. aureus* ont été soumises à un antibiogramme pour vérifier leur résistance vis-à-vis de 11 ATB appartenant à différentes familles. Les résultats de cette analyse sont rapportés dans la **Figure 3.11**. Les résultats obtenus montrent une grande résistance des *S. aureus* vis-à-vis de la pénicilline avec un taux de 84.61%, suivie de la gentamycine (61.53%) et la kanamycine (57.92%). En revanche la vancomycine et la pristinamycine restent parmi les ATB les plus efficaces car aucune résistance n'a été notée pour les souches staphylococciques pathogènes.



**Figure 3.11.** Profil de résistance des *Staphylococcus aureus*.

### 3.2.2. Profil de résistance des *Staphylococcus epidermidis* :

Concernant les souches SCN, nous avons effectué aussi un antibiogramme pour chaque isolat identifié. Le profil de cette antibiorésistance est rapporté dans la **Figure 3.12**. Dans le même sillage que celui des *S. aureus*, les souches de *S. epidermidis* sont résistantes à la pénicilline avec un taux très élevé (82.85%), suivies par le cotrimoxazole (68.57%). En revanche, aucune résistance n'a été enregistrée pour le chloramphénicol et la pristinamycine.



**Figure 3.12.** Profil de résistance des *Staphylococcus epidermidis* isolés.

P : Pénicilline (6µg) ; OXA : Oxacilline (5µg) ; V : Vancomycine (30µg) ; Tétracycline : Tétracycline (30µg) ; DA : Clindamycine (2µg) ; GM : Gentamycine (10µg) ; C : Chloramphénicol (30µg) ; E : Erythromycine (15µg) ; K : Kanamycine (30µg) ; PT : Pristinamycine (15µg) ; SXT : Cotrimoxazole (15µg) .

---

## DISCUSSION GENERALE

---

Notre travail s'est axé principalement sur le diagnostic bactériologique des prélèvements purulents, urinaires et ceux destinés à l'hémoculture, en vue de déterminer la fréquence des espèces du genre *Staphylococcus* isolées et d'évaluer ainsi leur profil de résistance aux ATB, afin de mieux définir les stratégies thérapeutiques et préventives.

Chaque institution doit réaliser une évaluation périodique de la sensibilité des isolats staphylococciques aux ATB actuellement utilisés. Notre étude répond à cet objectif par l'analyse de l'activité, *in vitro*, de plusieurs ATB contre 26 souches de *S. aureus* et 35 de *S. epidermidis* provenant des prélèvements sus-indiqués au niveau de l'hôpital de Koléa (Tipaza). En effet, la connaissance et la surveillance du profil de sensibilité des staphylocoques sont primordiales dans la prise en charge des infections générées par ces espèces bactériennes, ainsi que la maîtrise de leur diffusion clonale. On les rencontre dans les prélèvements d'origine diverse, mais particulièrement dans les prélèvements septicémiques, destinés à l'hémoculture, qui constituent une part très importante des activités du laboratoire de Bactériologie. Ceci a été le cas, lors de notre étude, où nous avons noté que 2/3 des prélèvements comportant la présence des souches staphylococciques.

Les prélèvements urinaires occupent aussi une place privilégiée où les staphylocoques ont été incriminés dans près de ¼ de cas. Le pourcentage des uro-infections à staphylocoques dans cette étude (4.59 %) peut être très difficilement comparé, du fait d'un manque de données dans la littérature. Une plus grande fréquence de staphylocoques est isolée en Allemagne : 20.6 % des malades hospitalisés et ils prennent la troisième place des uropathogènes après les entérocoques (29 %) et *E. coli* (22 %), d'après les résultats d'une étude pendant la période de 1990–1991 (**Guirguitzova et al., 2002**). Il y a une différence dans les proportions entre *S. aureus* et SCN. Chez les malades étudiés qui souffraient d'uro-infections compliquées ou nosocomiales, *S. aureus* existe chez 31 % et les SCN—chez 69 %, tandis que le pourcentage de ces derniers chez lui est considérablement plus grand : 86,5 % CNS et 13,5 % *S. aureus* (**Guirguitzova et al., 2002**).

Malgré le fait que le type *S. aureus* est plus rarement isolé dans les uro-infections, son importance comme agresseur des papilles rénales est très connue. On accepte que la colonisation précède l'infection staphylococcique, comme **Archer (1998)**, qui nous signale qu'à peu près 30 % des personnes saines sont colonisées au *S. aureus*. La porte d'entrée est avant tout nasale, mais aussi vaginale et péri-anales (**Archer, 1998 ; Fabre et al., 2013**).

SCN compte plus de 25 types, représentants de la flore cutanée normale chez l'homme qui étaient considérés comme non virulents. Pendant les dix dernières années on a prouvé que le nombre des

uro-infections causées par CNS augmente et on travaille sur l'éclaircissement et la précision de leur importance comme pathogènes (Orrett et Shurland, 1998 ; Gilbert *et al.*, 2013 ; Becker *et al.*, 2014).

La plupart des auteurs considérant que la cause de plus en plus fréquente des uro-infections à staphylocoques est la cathétérisation urétrale surtout après une thérapie antibactérienne standard. La transmission de l'infection entre les patients est souvent assurée par les mains du personnel (Archer, 1998 ; Conlan *et al.*, 2012 ; Gilbert *et al.*, 2013).

Le diagnostic microbiologique et le traitement de ces infections imposent l'identification correcte de l'agent étiologique en vue d'une bonne prise en charge thérapeutique. Selon Bes *et al.* (1990), l'identification des staphylocoques commence par la détermination de la famille, ensuite du genre (oxydase) et enfin des différentes espèces par la galerie biochimique, classique ou miniaturisée. Pour notre étude, nous avons suivi ce même mode opératoire afin d'identifier toutes les espèces staphylococciques incriminées.

La souche *S. aureus* a été retrouvée prédominante dans les prélèvements des infections communautaires avec une fréquence de 61.53% (16 isolats) comparativement aux prélèvements provenant de patients hospitalisés où un taux de 38.46% a été enregistré. Cette tendance a été inversée concernant les SCN où 24 isolats ont été isolés représentant un taux de 68.57%. Nos résultats ont été corroborés par les données de la littérature. Les infections à staphylocoques sont ubiquitaires et peuvent se présenter sous forme d'infections communautaires ou surtout sous forme d'infections nosocomiales. L'épidémiologie des infections à staphylocoques évolue, au cours de la vie, et passe quasi-obligatoirement par un portage essentiellement nasal antérieur. Le personnel hospitalier médical et paramédical présente un taux de portage nasal plus important que la population générale. Certains patients ont un risque plus élevé de colonisation nasale à staphylocoque : diabétiques insulino-dépendants, dialysés chroniques, toxicomanes par voie veineuse, patients porteurs du VIH ou sida déclaré, patients âgés en maison de retraite médicalisée (Halablab *et al.*, 2010 ; Stone *et al.*, 2012).

L'information pour la prévalence des SCN des urines, par d'autres auteurs (Guirguitzova *et al.*, 2002) a été confirmée sur nos isolats. La haute fréquence des SCN est liée avant tout à l'hospitalisation. On accuse le rôle du milieu hospitalier pour la dissémination de telles souches (Huebner et Goldmann, 1999 ; Otto, 2013). Des auteurs américains constatent une différence importante pour la fréquence des staphylocoques, entre les prélèvements sur des patients hospitalisés et ceux qui ne sont pas hospitalisés, 39,70 % et 16,76 % respectivement (Aksungur et Yaman, 1998).

Les staphylocoques constituent les agents étiologiques les plus fréquemment décrits dans les infections communautaires. Les espèces de cette famille ont été, depuis une vingtaine d'années, largement exposées à une utilisation extensive des ATB. Revers de la médaille, elles n'ont pas été épargnées par la résistance croissante aux molécules les plus fréquemment utilisées. De nombreuses études multicentriques l'ont attesté tant à l'hôpital qu'en ville. Certaines d'entre elles ont même décrit certains facteurs de risque de la résistance, parmi ceux-ci on trouvait les antécédents d'antibiothérapie, un séjour préalable à l'hôpital et un âge supérieur à 60–65 ans.

*Staphylococcus aureus* a un fort pouvoir adaptatif et a développé différents mécanismes de résistance aux antistaphylococciques. Plus de 90% des souches produisent une pénicillinase. L'oxacilline reste active contre ces souches, mais des staphylocoques hospitaliers, et plus récemment communautaires (présents hors de l'hôpital), ont développé une résistance croisée entre les pénicillines M (mécilline, oxacilline) et les autres  $\beta$ -lactamines par la production d'une protéine liant les pénicillines (PLP) et ayant une faible affinité pour ces composés (**Fernandez-Gerlinger et Mainardi, 2014**). Ces résultats ont été confirmés lors de notre étude où nous avons noté que les isolats staphylococciques, pathogènes ou non, demeurent très résistants aux ATB de la famille des  $\beta$ -lactamines, en particulier la pénicilline. La fréquence de la résistance globale des *S. aureus*, hospitalières et communautaires, à la pénicilline G (80.6%) et gentamycine (61.53%) demeure élevée. Des résultats similaires aux nôtres ont été rapportés par **Lowy et al. (2003)** et **Elhamzaoui et al. (2009)** qui indiquent qu'actuellement plus de 90 % des souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline G par production de pénicillinase. Le support génétique de cette résistance a été décrit par **Pinho et al. (2001)**. Le gène de la pénicillinase appartient à un transposon, localisé le plus souvent sur un large plasmide, qui peut porter également des gènes de résistance à d'autres ATB (aminosides, macrolides), à des antiseptiques ou à des métaux lourds. Il peut également s'intégrer dans le chromosome **Elhamzaoui et al. (2009)**.

Dans notre étude, la Pénicilline G reste l'antibiotique le moins actif vis-à-vis des souches pathogènes ou non. Cette tendance a été confirmée en différents points du monde par plusieurs études antérieures (**De Sousa et al., 2003 ; Van Duijkeren et al., 2004**).

Par ailleurs et eu égard des résultats obtenus lors de notre étude, il a été constaté que le taux de résistance à l'oxacilline chez *S. aureus* est de 38.46 %, taux plus élevée que celui trouvé dans les cinq principaux hôpitaux du district de Thessalie (Grèce centrale) puisque 14.8 % des isolats étaient résistants (**De Sousa et al., 2003**) et plus élevé encore que dans les pays nordiques (Suède, Danemark) où le pourcentage de *S. aureus* résistant à l'oxacilline est resté très bas (< 2 %) (**Elhamzaoui et al., 2009**). En outre, nous retrouvons dans notre étude les mêmes résultats que ceux obtenus par **Lelièvre et al. (1999)**, montrant une plus grande sensibilité parmi les souches sensibles

à la gentamicine, à la rifampicine et au cotrimoxazole. Par l'intermédiaire de ces souches, la résistance à l'oxacilline diffuse même dans le monde animal, pire encore, il est prouvé maintenant qu'il y a une transmission horizontale de la résistance entre les SCN et les souches de *S. aureus*, ce qui ne laisse augurer rien de bon pour l'avenir (**Wielders et al., 2002 ; Van Duijkeren et al., 2004**).

Par ailleurs, vancomycine et pristinamycine demeurent les ATB les plus actives sur la totalité des souches *S. aureus* (100%), contrairement à **Garnier et al. (2002)**, qui a retrouvé une plus grande résistance dans un centre pédiatrique de la région parisienne. La même constatation a été faite par **Ravaoarino et Therrien (1996)** qui ont démontré que la teicoplanine et la vancomycine sont deux à huit fois plus actives que les autres ATB testés contre la majorité des staphylocoques, en particulier les SARM. Rappelant que la vancomycine a été sur le marché depuis 30 ans et est le médicament de choix pour le traitement des infections graves causées par les bactéries à Gram positif dans de nombreux hôpitaux, toutefois, son utilisation abusive a abouti ces dernières années, à l'apparition de résistance très élevée chez les staphylocoques à coagulase négative (de 65 à 80 %) même dans les pays nordiques (de 30 à 40 %) (**Gosbell, 2004 ; Elhamzaoui et al., 2009 ; David et Daum, 2010**).

Le gentamicine est un produit, qui est proposé par certains auteurs pour le traitement des infections à staphylocoques (**Garnier et al., 2002**), mais nos résultats ont prouvé que pour ce produit existent des différences importantes concernant la sensibilité entre les souches *S. aureus* et les souches *S. epidermidis*. Les SCN réagissent bien à gentamicine avec un taux de 85.71 %, tandis qu'avec les souches pathogènes, cet ATB est actif uniquement sur 38.46%. Un effet considérablement meilleur a été constaté avec un autre ATB de la même famille (aminosides), en l'occurrence la kanamycine, où parmi les SCN, 51.42% des isolats se sont manifestés sensibles.

Pendant les années 1960, les chercheurs ont constaté que nombre des staphylocoques se manifestent résistants aux semi-synthétiques bêta-lactame et, suite à cela, ils étaient nommés méticilline résistants staphylocoques. Les choses sont devenues plus compliquées quand des différentes études ont prouvé que ces souches sont résistantes à tous les bêta-lactame, y compris les céphalosporines. Cela a posé des difficultés de guérison des infections causées par eux-mêmes.

## CONCLUSION

---

Le diagnostic bactériologique des infections humaines revêt une importance particulière. Il permet une surveillance épidémiologique et guide l'antibiothérapie, à l'heure de résistances bactériennes toujours plus fréquentes. Les infections humaines dues aux staphylocoques occupent une place importante en pathologie infectieuse en raison de leur fréquence et de leur gravité, tant au niveau de l'hôpital qu'au sein des populations.

Notre étude a été réalisée au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Koléa (Tipaza) sur des prélèvements purulents, urinaires et ceux destinés à l'hémoculture, provenant d'infections hospitalières ou communautaires, en vue de déterminer la fréquence des staphylocoques isolés et d'évaluer leur profil de résistance aux ATB.

Sur 1403 prélèvements obtenus, 61 répondaient aux critères d'infection liée aux staphylocoques. Les isolats staphylococciques dominent principalement les prélèvements purulents, suivis des prélèvements urinaires et des hémocultures. L'espèce *S. aureus* domine le profil épidémiologique pour les infections communautaires alors que les staphylocoques coagulase négative (*S. epidermidis*) ont été retrouvés prédominants chez les patients hospitalisés. La fréquence de la résistance globale des *S. aureus*, hospitalières et communautaires, à la pénicilline G demeure très élevée. En revanche, la vancomycine et la pristinaamycine ainsi que le chloramphénicol conservent une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des isolats pathogéniques. La multi-résistance des staphylocoques est devenu remarquablement répandue dans les prélèvements humains, d'où la nécessité de la mise en œuvre d'une stratégie active et efficace garantissant une sécurité microbiologique afin d'éviter la propagation de cette résistance.

Les conséquences médicales (majoration de la mortalité) et économiques (durées de séjours plus longues, coûts des traitements) générées par les infections bactériennes ont déjà été largement évaluées. Cet état de fait justifie dans les établissements sanitaires la mise en place de moyens adaptés de prévention de transmission par application des précautions standards ou complémentaires de contact, de détection de ces résistances bactériennes, de connaissance approfondie de l'écologie locale et une implication particulière pluridisciplinaire dans la lutte contre les infections liées aux SARM.

Le diagnostic microbiologique et le traitement de ces infections imposent l'identification correcte de l'agent étiologique en cause pour une bonne prise en charge thérapeutique. La détection classique du staphylocoque par culture sur gélose nécessite 24 heures et les recommandations consistent à compléter cette culture par une identification et par un antibiogramme, ce qui requiert 24 heures de plus. Comme perspectives, l'amélioration du diagnostic étiologique passe aussi par l'utilisation plus large des techniques d'identification génétique, comme l'amplification génomique par PCR ou la recherche d'antigènes dans le liquide purulents. L'analyse moléculaire des clones détectés localement paraît indispensable, à terme, pour une compréhension et une réaction adaptées à l'émergence des multirésistants. Ces tests sont utiles chez tous les patients de réanimation, en raison de leurs facteurs de risque, ainsi que chez les patients à risque en orthopédie, pour ajuster la prophylaxie.

En outre, il nous semble raisonnable de recommander le dépistage des patients transférés d'un autre hôpital ou d'une unité de long-séjour, les patients provenant de pays à haute endémie ou encore les patients suivis pour une pathologie chronique. Le respect des précautions standards et l'application des recommandations des Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales locaux permettront de limiter la dissémination des souches en milieu hospitalier. Ces faits semblent amplement suffisants pour mettre en place une stratégie de prévention même de lutter contre la diffusion de ces infections. Cette dernière se faisant essentiellement par transmission croisée ou manuportée. La stratégie de maîtrise reposera, en tout premier lieu, sur l'interruption de la transmission horizontale par l'application stricte de mesures d'hygiène simples.

La multi-résistance des *S. aureus* reste un problème d'actualité et un sujet de préoccupation légitime. La tenue rigoureuse de statistiques locales constamment remises à jour est indispensable pour établir les protocoles de traitement probabiliste. Le monitoring de la sensibilité antibactérienne des types staphylocoques isolés a une grande importance et devrait être continué.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

1. **Adam F, Drouillard I. 2003.** Sulfamides et associations. *Encycl Méd Chir, Maladies infectieuses*, 9.
2. **AFSSA. 2006.** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Rapport du groupe de travail « Antibiorésistance ». Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Maisons-Alfort, 214.
3. **Aksungur P, Yaman A. 1998.** Antibiotic Resistance in Coagulase Negative Staphylococci Isolated in the Clinical Laboratory of Balcali Hospital. *Annals of Medical Sciences*, 7, 26-30.
4. **Alves MS, Rubens CSD, De Castro ACD, Riley LW, Moreira BM. 2006.** Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(10), 3640-3646.
5. **Archer GL. 1998.** *Staphylococcus aureus*: a well-armed pathogen. *Clinical Infectious Diseases*, 26(5), 1179-1181.
6. **Arciola CR, Collamati S, Donati E, Montanaro L. 2001.** A rapid PCR method for the detection of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* and *S. aureus* in periprostheses infections. *Diagn Mol Pathol* 10, 130,137.
7. **Ariznabarreta A, Gonzalo C, San Primitivo F. 2002.** Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to Staphylococci. *Journal of Dairy Science*, 85, 1370-1375.
8. **Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Arlet G. 2014.** Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathologie Biologie*, 62(3), 169-178.
9. **Batard E, Montassier E, Ballereau F, Potel G. 2012.** De la consommation d'antibiotiques aux résistances bactériennes: l'exemple de la résistance d'*Escherichia coli* aux quinolones. *Médecin Thérapeutique*, 17(4), 294-301.
10. **Becker K, Heilmann C, Peters G. 2014.** Coagulase-Negative Staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870-926.
11. **Bes M, Freney J, Brun Y, Fleurette J. 1990.** Identification des staphylocoques au laboratoire de microbiologie clinique. *Lyon Pharmaceutique*, 41(1), 37-46.
12. **Bonnet R, Cavallo JD, Chardon H, Chidiac C, Courvalin P, Dabernat H, Guery B. 2012.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
13. **Bruce J, MacKenzie FM, Cookson B, Mollison J, Van der Meer JW, Krcmery V, Gould IM. 2009.** ARPAC Steering Group. Antibiotic stewardship and consumption: findings from a pan-European hospital study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(4), 853-860.
14. **Calhoun JH, Overgaard KA, Stevens CM, Dowling JP, Mader JT. 2002.** Diabetic foot ulcers and infections: current concepts. *Advances Skin Wound Care*, 15, 31-42.
15. **Cleef BA, Broens EM, Voss A, Huijsdens XW, Züchner L, Van Benthem BH, Kluytmans JA, Mulders MN, Van De Giessen AW. 2010.** High prevalence of nasal MRSA carriage in slaughterhouse workers in contact with live pigs in The Netherlands. *Epidemiology Infections*. 138, 756-763.
16. **Clerc O. 2012.** Traitement des infections urinaires simples: impact des résistances antibiotiques croissantes dans la communauté. *Maladies Infectieuses*, 338(16), 878-881.\*
17. **CNR. 2004.** Les infections à staphylocoques - Centre National de Référence des Staphylocoques.
18. **Conlan S, Mijares LA, Becker J, Blakesley RW, Bouffard GG, Brooks S, Segre JA 2012.** *Staphylococcus epidermidis* pan-genome sequence analysis reveals diversity of skin commensal and hospital infection-associated isolates. *Genome Biology*, 13(7), R64.
19. **Dagnara AY, Tristan A, Gillet Y, Etienne J.2004.** Nouveaux staphylocoques dorés. *Revue du Praticien*, 54, 1053-58.
20. **David MZ, Daum RS. 2010.** Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(3), 616-687.

21. **Davis SL, Perri MB, Donabedian SM, Manierski C, Singh A, Vager D. 2007.** Epidemiology and outcomes of community-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 1705-1711.
22. **De Sousa MA, Bartzavali C, Spiliopoulou I, Sanches IS, Crisostomo MI, De Lencastre H. 2003.** Two international methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones endemic in a university hospital in Patras, Greece. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(5), 2027-2032.
23. **Del Giudice P, Tattevin P, Etienne J. 2012.** Infections à *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline communautaires. *La Presse Médicale*, 41(7), 713-720.
24. **Delarras C. 2007.** Microbiologie pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Éditions Tec & Doc - EM Inter – Lavoisier Paris, 128, 129, 269, 271.
25. Denis F, Cécile P, Martin C, Bingen E, Quentin R. 2007. *Bactériologie Médicale : technique usuelles*. Masson, 254-260.
26. **Diensaert. 2005.** Guide pratique des analyses médicales. Edition Maloine SA, 420.
27. **Donnelly CW, Baigent GJ. 1986.** Method for flow cytometric detection of *Listeria monocytogenes* in milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 52, 689-695.
28. **Doroz P. 2002.** Guide pratique des médicaments. Edition Maloine, Paris, 185.
29. **Dow G. 2003.** Bacterial swabs and the chronic wound: when, how, and what do they mean?. *Ostomy Wound Manage*, 49, 8-13.
30. **Dupouy-Camet J. 2002.** Richinellosis a worldwide zoonosis. *Veterinary Practice*, 93,191-200.
31. **Elhamzaoui,S, Benouda A, Allali F, Abouqual R, Elouennass M. 2009.** Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylocoques aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 39(12), 891-895.
32. **Fabre R, Mérens A, Tabone-Ledan C, Epifanoff G, Cavallo JD, Ternois I. 2013.** *Staphylococcus saprophyticus* isolés d'examen cyto bactériologiques urinaires en ville: épidémiologie et sensibilité aux antibiotiques (étude Label Bio Elbeuf–novembre 2007–juillet 2009). *Pathologie Biologie*, 61(2), 44-48.
33. **Fajardo A, Linares JF, Martínez JL. 2009.** Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes. *Clinical Microbiology and Infections*, 15, 14-16.
34. **Fernandez-Gerlinger MP, Mainardi JL. 2014.** Nouvelles associations dans le traitement des infections graves à cocci à Gram positif. *Journal des Anti-infectieux*, 16(1), 18-23.
35. **Fessler A, Scott C, Kadlec K, Ehricht R, Monecke S. 2010.** Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65, 619-625.
36. **Garnier F, Mariani-Kurkdjian P, Nordmann P, Ferroni A, Vu-Thien H, Philippe JC, Raymond J. 2002.** Sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylocoques et d'entérocoques isolées en pédiatrie. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 32(8), 432-438.
37. **Gaudy C, Buxeraud J. 2005.** Antibiotiques: pharmacologie et thérapeutique. Elsevier Masson, 269.
38. Giguere S, Prescott JF , Baggot JD, Walker Rd. Dowling PM. 2007. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 4th ed, Blackwell Scientific Publications, Wiley-Blackwell, USA, 626 pages.
39. **Gilbert NM, O'Brien VP, Hultgren S, Macones G, Lewis WG, Lewis AL. 2013.** Urinary tract infection as a preventable cause of pregnancy complications: opportunities, challenges, and a global call to action. *Global Advances in Health and Medicine*, 2(5), 59-69.
40. **Gomez-Sanz E, Torres C, Lozano C, Fernandez-Perez R, Aspiroz C. 2010.** Detection, molecular characterization, and clonal diversity of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* CC398 and CC97 in Spanish slaughter pigs of different age groups. *Food-borne Pathology and Diseases*, 7, 1269-1277.
41. **Gorden L, Cloeckert A, Doublet B, Schwarz S, Bouju-Albert A, Ganiere JP, Le Bris H, Le Fleche-Mateos A, Giraud E. 2008.** Complete sequence of the floccarrying multiresistance plasmid Pab5S9 from fresh water *Aeromonas bestiarum*. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. 62, 65-71.
42. **Gosbell IB. 2004.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *American Journal of Clinical Dermatology*, 5(4), 239-259.

- 43. Guirguitzova, B, Chankova D, Zozikov B. 2002.** Les staphylocoques comme uropathogènes— fréquence d'isolement chez des malades hospitalisés et sensibilité envers les substances antibactériennes. *Annales d'urologie*, 36, 5, 341-347.
- 44. Haggag A, Hussain M, Lonnie H, Herrmann M, Norrby-Teglund A, Flock JI. 2003.** Extracellular adherence protein from *Staphylococcus aureus* enhances internalization into eukaryotic cells. *Infection and Immunity*, 71 (5), 2310-2317.
- 45. Halablab MA, Hijazi SM, Fawzi MA, Araj GF. 2010.** *Staphylococcus aureus* nasal carriage rate and associated risk factors in individuals in the community. *Epidemiology and Infection*, 138(05), 702-706.
- 46. Hota B, Ellenbogen C, Hayden MK, Aroutcheva A, Rice TW, Weinstein RA. 2007.** Community-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections at a public Hospital: do public housing and incarceration amplify transmission?. *Archives of Internal Medicine*, 167, 1026-33.
- 47. Huebner J, Goldmann DA. 1999.** Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annual Review of Medicine*, 50(1), 223-236.
- 48. Jehl F, Chomar M, Weber M. 2003.** De l'antibiogramme à la prescription. Editions Biomérieux.
- 49. Jensen SO, Lyon BR. 2009.** Genetics of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiology*, 4, 565-582.
- 50. Kadlec K, Schwarz S. 2009.** Novel ABC transporter gene, *vga(C)*, located on a multiresistance plasmid from a porcine Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 3589-3591.
- 51. Karthik S. 2007.** Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation. The University of Southern Mississippi. Edition UMI Microform USA, 20-24.
- 52. Kempf I, Zeitouni S. 2012.** Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences. *Pathologie Biologie*, 60(2), e9-e14.
- 53. Köck R, Harlizius J, Bressan N, Laerberg R, Wieler LH, Witte W, Deurenberg, RH, Voss A, Becker K, Friedrich AW. 2009.** Prevalence and molecular characteristics of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among pigs on German farms and import of livestock-related MRSA into hospitals. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 28, 1375–1382.
- 54. Kouwen TRHM, Trip EN, Denham EL, Sibbald, MJJB., Dubois, JYF, van Dijnl JM. 2009.** The large mechanosensitive channel (MscL) determines bacterial susceptibility to the bacteriocin sublancin 168. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 4702-4711.
- 55. Lelièvre H, Lina G, Jones ME, Olive C, Forey F, Roussel-Delvallez M, Etienne J. 1999.** Emergence and spread in French hospitals of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(11), 3452-3457.
- 56. Leyral G, Joffin JN. 2003.** *Microbiologie : Documentation technique*. CRDP d'Aquitaine, Bordeaux, 299.
- 57. Loeza-Lara PD, Soto-Huipé M, Baizabal-Aguirre VM, Ochoa-Zarzosa A, Valdez-Alarcon JJ. 2004.** pBMSa1, a plasmid from a dairy cow isolate of *Staphylococcus aureus*, encodes a lincomycin resistance determinant and replicates by the rolling-circle mechanism. *Plasmid*, 52, 48-56.
- 58. Lowy FD. 2003.** Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation*, 111(9), 1265-1273.
- 59. Lozano C, Aspiroz C, Ara M, Gomez-Sanz E, Zarazaga M. 2011.** Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 in a farmer with skin lesions and in pigs of his farm: clonal relationship and detection of *lnu(A)* gene. *Clinical Microbiology and Infections*, 17, 923-927.
- 60. Magill SB, Raff H, Shaker JL. 2001.** Comparison of adrenal vein sampling and computed tomography in the differentiation of primary aldosteronism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86, 1066-1071.
- 61. Martínez JL, Baquero F, Andersson DI. 2007.** Predicting antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 5(12), 958-965.
- 62. McDougal LK, Fosheim GE, Nicholson A, Bulens SN, Limbago BM. 2010.** Emergence of resistance among USA 300 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing invasive disease in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54, 3804-3811.

- 63. Medouakh L, Tabak S, Benkada A, Mahi A, Rouissat A. 2006.** Isolation and characterization of *Helicobacter pylori* from patients suffering from gastroduodenal ulcer disease. *Egypt Journal of Applied Science*, 21(3), 406-417.
- 64. Mehtar S. 1994.** The continuing problem of hospital staphylococci: why?. *Journal of Chemotherapy*, 6, 25-31.
- 65. Michel MC, Pharm B. 2013.** Infection nosocomiale à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez un patient adulte hospitalisé: quel antibiotique choisir?. *Pharmactuel*, 46(1), 23.
- 66. Monecke S, Kuhnert P, Hotzel H, Slickers P, Ehricht R .2007.** Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of *Staphylococcus aureus* isolates from cattle. *Veterinary Microbiology*, 125, 128-140.
- 67. Ndoye R. 2004.** Algorithme d'identification des Entérobactéries et des bacilles gram négatifs non fermentaires. Thèse de Pharm, n° 83.
- 68. Neely AN, Holder LA. 1999.** Antimicrobial resistance. *Burns*, 25, 17–24.
- 69. Nehal M, Zuel-Fakkar MD, Mona H, El-Shokry MD. 2010.** Study of erythroderma and psoriasis exacerbation by Staphylococcal Superantigens. *Journal of Egyptian Women Dermatology Society*, 7, 113-17.
- 70. Nuemi G, Astruc K, Aho S, Quantin C. 2013.** État des lieux et évaluation de la surveillance des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM): PMSI versus surveillance Raisin. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 61(5), 455-461.
- 71. Orrett FA, Shurland SM. 1998.** Significance of coagulase-negative staphylococci in urinary tract infections in a developing country. *Connecticut Medicine*, 62(4), 199-203.
- 72. Otter JA, French GL. 2010.** Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infectious Diseases*, 10, 227–239.
- 73. Otto M. 2013.** Coagulase-negative staphylococci as reservoirs of genes facilitating MRSA infection. *Bioessays*, 35(1), 4-11.
- 74. Perrin PA. 2012.** Suivi de l'antibiorésistance au niveau d'un laboratoire en Europe. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Département des Productions Animales et de Santé Public, Cours de 5ème année Semaine "Pathologie infectieuse des ruminants".
- 75. Philippon A.2006.**  $\beta$ -lactamases de bacilles a Gram negatif : le mouvement perpetuel. *Annales de Biologie Clinique*, 64, 37-51.
- 76. Pinho MG, Filipe SR, de Lencastre H, Tomasz A. 2001.** Complementation of the essential peptidoglycan transpeptidase function of penicillin-binding protein 2 (PBP2) by the drug resistance protein PBP2A in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, 183(22), 6525-6531.
- 77. Ravaoarino M, Therrien C. 1996.** Comparative in vitro activity of nine antistaphylococcal agents against 275 recent isolates of Gram-positive cocci. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 7(3), 167-170.
- 78. Rohde H, Burandt EC, Siemssen N, Frommelt L, Burdelski C. 2007.** Polysaccharide intercellular adhesin or protein factors in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* isolated from prosthetic hip and knee joint infections. *Biomaterials* 28, 1711-1720.
- 79. Rose WE, Rybak MJ, Kaatz GW. 2007.** Evaluatio of daptomycin treatment of *Staphylococcus aureus* bacterial endocarditis: an *in vitro* and *in vivo* simulation using historical and current dosing strategies. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 334-340.
- 80. Schijffelen MJ, Boel CH, Van Strijp JA, Fluit AC. 2010.** Whole genome analysis of a livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolate from a case of human endocarditis. *BMC Genomics*, 11, 376.
- 81. Stegger M, Lindsay JA, Sorum M, Gould KA, Skov R. 2010.** Genetic diversity in CC398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of different geographical origin. *Clinical Microbiology and Infections*, 16, 1017–1019.
- 82. Stone ND, Lewis DR, Johnson TM, Hartney T, Chandler D, Byrd-Sellers J, Gaynes RP. 2012.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal carriage in residents of Veterans Affairs long-term care facilities: role of antimicrobial exposure and MRSA acquisition. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 33(6), 551-557.

83. **Tabak S.2007.** : Interactions entre *Helicobacter pylori* responsable de maladies gastroduodénales et Bifidobacteries. Mémoire de magister, Université d'Oran, Algérie.
84. **Thomas D, Chou S, Dauwalder O, Lina G. 2007.** Diversity in *Staphylococcus aureus* enterotoxins. Chem Immunology and Allergy 93, 24-41.
85. **Trémolières F. 2013.** Les antibiotiques: pourquoi tant d'émois? Première partie: de «l'âge d'or» au miracle dépassé. Médecine, 9(8), 366-368.
86. **Van Duijkeren E, Box A, Heck M, Wannet W, Fluit AC. 2004.** Methicillin-resistant staphylococci isolated from animals. Veterinary microbiology, 103(1), 91-97.
87. **Wielders CLC, Fluit AC, Brisse S, Verhoef J, Schmitz FJ. 2002.** mecA gene is widely disseminated in *Staphylococcus aureus* population. Journal of Clinical Microbiology, 40(11), 3970-3975.
88. **Williams DT, Hilton JR, Harding K. 2004.** Diagnosing foot infection in diabetes. Clinical Infectious Diseases, 39, S83-86.
89. **Wilson M, Gaido L. 2004.** Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. Clinical Infectious Diseases, 38, 1150-60.
90. **Wright JS, 3rd, Traber KE, Corrigan R, Benson SA, Musser JM, 2005.** The agradiation: an early event in the evolution of staphylococci. Journal of Bacteriology, 187, 5585-5594.
91. **Wulf MW, Markestein A, van der Linden FT, Voss A, Klaassen C, Verduin CM. 2008.** First outbreak of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in a Dutch hospital. Euro Surveillance, 13, 8051.
92. **Zmantar T, Kouidhi B, Miladi H, Bakhrouf A. 2011.** Detection of macrolide and disinfectant resistance genes in clinical *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. BMC Research Notes, 4, 453.

**Tableau 1.1** : Activité, mécanisme d'action et mode de résistance (Petignat, 2005).

<b>Antibiotiques</b>	<b>Activité</b>	<b>Mécanismes d'action</b>	<b>Mécanismes de résistance</b>
b-lactames	Gram+	Inhibition de la synthèse de la	-Modification de la cible
pénicillines	Gram -	paroi bactérienne	-Production de b-lactamase
céphalosporines			
carbapénèmes			
Glycopeptides	Gram +	Inhibition de la synthèse de la	Modification de la cible
		paroi bactérienne	
Aminoglycosidases	Gram -	Inhibition de la synthèse des	-Modification de la cible
(aminosides)		protéines, ribosomes	-production d'un inhibiteur
Tétracyclines	Gram +	Inhibition de la synthèse des	-Modification de la cible
	Gram -	protéines, ribosomes	-Mécanismes de reflux
Macrolides	Gram +	Inhibition de la synthèse des	-Modification de la cible
Lincosamide	Gram -	protéines, ribosomes	-Imperméabilité de la paroi gram -
Quinolones	Gram +	Inhibition de la réplication de	Modification de la cible
	Gram -	l'ADN, ADN gyrase	
Rifamycines	Gram +	Inhibition de la synthèse de	Modification de la cible
		l'ARN, ARN polymérase	
Triméthoprim	Gram +	Inhibition de la synthèse des	Modification de la cible
Sulfonamides	Gram -	acides nucléiques, enzymes	

**MATÉRIEL NON BIOLOGIQUE :****Verreries et appareillage :**

<b>Ecouvillon</b> 	<b>Pince métallique</b> 	<b>Portoir</b> 	<b>Tube à essai</b> 
<b>Boîte de pétri</b> 	<b>Lames</b> 	<b>Lamelles</b> 	<b>Tube à hémolyse</b> 
<b>Poire</b> 	<b>Agitateur</b> 	<b>Densitomètre</b> 	<b>Bec benzène</b> 

<p><b>Microscope optique</b></p> 	<p><b>Etuve</b></p> 	<p><b>Etuve</b></p> 	<p><b>Réfrigérateur</b></p> 
<p><b>Disques d'antibiotiques</b></p> 	<p><b>Micropipette</b></p> 	<p><b>Pied à coulisse</b></p> 	

**Tableau 2.2.** Origine et caractéristiques des souches de références utilisées (CNR, 2004).

Origine	Souches de références	Caractéristiques et utilisations
Institut Pasteur d'Alger	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Sensible à la pénicilline
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Résistante à pénicilline et oxacilline

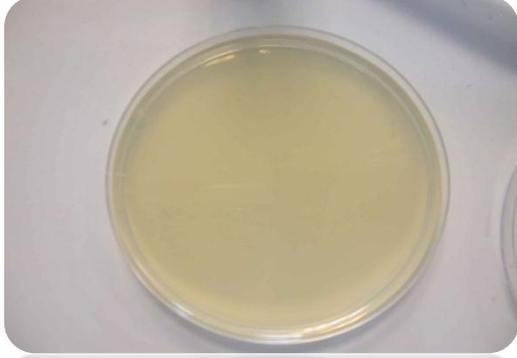
**Tableau 2.3:** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour staphylocoques (Philippon, 2006)

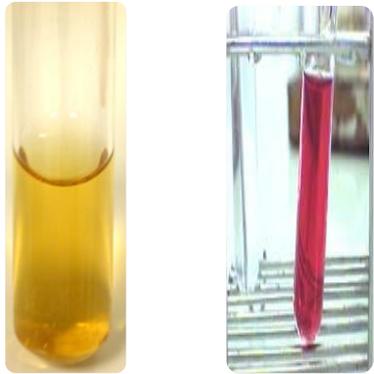
Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline	10 UI	28	---	29	0,25	-----	0,12
Oxacilline ( <i>S.aureus</i> )	1 µg	10	11 – 12	13	4	-----	2
Oxacilline ( <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	-----	-----	4	-----	2
Cefoxitine ( <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	21	---	22	8	-----	4
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	1 µg	----	---	-----	0,5	-----	0,25
Cefoxitine (S.C.N.sauf <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	24	---	25	---	----	---
Gentamicine	10 µg	12	13 – 14	15	16	8	4
Kanamycine	30 µg	13	14 – 17	18	64	32	16
Amikacine	30 µg	14	15 – 16	17	64	32	16
Erythromycine	15 µg	13	14 – 22	23	8	1-4	0.5
Clindamycine	2µg	14	15 – 20	21	4	1-2	0,5

**Tableau 2.3:** Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour staphylocoques (Philippon, 2006)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Vancomycine	CMI	---	---	-----	32	8-16	4
Teicoplanine	30 µg	10	11 – 13	14	32	16	8
Ofloxacine	5 µg	14	15 – 17	18	4	2	1
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	10	11 – 15	16	4/76	-----	2/38
Rifampicine	5 µg	16	17 – 19	20	4	2	1
Tétracycline	30 µg	14	15 – 18	19	16	8	4
Chloramphénicol	30 µg	12	13 – 17	18	32	16	8
Pristinamycine	15 µg	< 19	19 – 21	≥ 22	> 2		≤ 1
Acide fusidique**	10 µg	< 24	-----	≥ 24	> 1		≤ 1
Fosfomycine**	50 µg	< 14	-----	≥ 14	> 32		≤ 32

## Compositions des milieux de cultures :

<p><b>Gélose Mueller -Hinton : formule g/L</b></p> <p>- infusion de viande de bœuf déshydrate : 300 g</p> <p>-Peptone de caséine .....17,5 g</p> <p>-Amidon de maïs ..... 1,5 g</p> <p>-Agar .....17 g</p> <p>-L'eau physiologie ..... 1L</p> <p>-pH = 7,4</p>	 <p>Mueller Hinton Agar Plate</p>
<p><b>Gélose Nutritif : formule g /L</b></p> <p>-Extrait de viande .....1,0g/L</p> <p>-Extrait de levure..... 2.5g/L</p> <p>-Peptone .....5,0g/L</p> <p>-Chlorure de sodium .....5,0g/L</p> <p>-Agar..... 15,0g/L</p> <p>-pH = 7,0</p>	
<p><b>Gélosé Chapman : formule g/L</b></p> <p>-Peptone.....11 g</p> <p>-Extrait de viande de bœuf.....1g</p> <p>-Chlorure de sodium .....75 g</p> <p>-Mannitol .....10 g</p> <p>-Rouge de phénol .....0,025 g</p> <p>-Agar-Agar .....15 g</p> <p>-Eau distillée :..... 1 L</p> <p>-pH = 7,4</p>	

<p><b>Milieu TSI :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Peptone caséine:.....15 g/L</li> <li>-Peptone de viande :.....5 g/L</li> <li>-Extraits de viande.....3 g/L</li> <li>-Peptones de levure.....3 g/L</li> <li>-NaCl.....5 g/</li> <li>-Lactose.....10 g/L</li> <li>-Saccharose.....10 g/L</li> <li>-Glucose.....1 g/L</li> <li>-Citrate ammoniacal de Fer.....0.5 g/L</li> <li>-Thiosulfate de sodium.....0.5 g/L</li> <li>-Rouge de phénol.....0.024 g/L</li> </ul>	
<p><b>Bouillon Nitrate :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Infusion cœur-cerveille..... 25,0 g</li> <li>- Nitrate de sodium..... 10,0 g</li> <li>- Eau distillée ..... 1 L</li> </ul>	
<p><b>Milieu de mannitol mobilité:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Hydrolysate trypsique de caséine:.....10,0g</li> <li>-Mannitol.....7,5 g</li> <li>-Rouge de phénol.....0,4mg</li> <li>Agar.....3,5 g</li> <li>-pH = 7,6</li> </ul>	