REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 01

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie-Bactériologie

Contribution à l'étude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques courants

Présenté par :

M^me^ ZAARA Bahia

Date de la soutenance :

18/12/2013

Devant le jury composé de :

M^r^ GUETARNI D.	**Professeur**	**Président**	**Université de Blida 01**
M^me^ KADRI F.	**MAA**	**Examinatrice**	**Université de Blida 01**
M^me^ KHALDOUN H.	**MAA**	**Examinatrice**	**Université de Blida 01**
M^me^ HAMAIDI F.	**MC**	**Promotrice**	**Université de Blida 01**

Promotion : 2012/2013

Remerciements

Au terme de ce travail, je remercie d'abord le bon ***DIEU*** *tout puissant de m'avoir donné volante, patience et surtout la santé pour l'accomplissement de ce travail et cueillir le fruit d'un long cursus universitaire.*

Je tiens aussi à remercier, ma promotrice ***Dr HAMAIDI.F****, chargée de cours à l'université de SAAD DAHLAB-BLIDA pour m'avoir accepté de disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

Je remercie également ***Dr BEN GOUFA.A****, médecin biologiste de laboratoire de Biologie médicale BIOBLIDA, pour m'avoir facilité l'accès à son laboratoire, ce qui m'a permis de réalisation de ce travail.*

Je remercie aussi ***Dr SAADAN****, chef de service de laboratoire pour m'avoir mis à ma disposition tous le matériel nécessaire pour la réalisation de mon travail et l'ensemble de personnel de laboratoire pour leur accueil.*

J'exprime mon profonde gratitude à ***Mr GUETARNI.D****, pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury.*

Je tiens à adresser mes vifs remerciements à ***Mme AIT SAADI.N*** *et* ***Mme KHALDOUN.H*** *à l'université de Blida pour l'honneur d'examiner ce travail.*

Je remercie ***Dr HAMAIDI.M/S*** *et tous mes enseignants pour leur contribution dans ma formation tout au long de mon cursus universitaire.*

A ceux qui n'ont pas été cité par omission involontaire de ma part et qui ont contribué à la réalisation de ce travail, je leur présente mes excuses et je leur dis merci à toutes et à tous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A ceux qui m'ont toujours aidé et soutenu durant toute ma scolarité,

A ***mon père*** *qui a toujours été là quand j'avais besoin de lui.*

A celle qui s'est sacrifiée et qui m'a entourée de son affection, de son amour et m'a encouragée et protégée, celle qui m'a comblée de sa douceur et de sa compréhension, ma très chère ***maman.***

Plus précisément, je dédie ce travail à mon époux ***«Abderahmen»*** *pour son soutien psychologique et sa gentillesse ainsi pour son aide précieuse, et qui a supporté avec patience et compréhension toutes ces soirées de labeur ainsi à notre petite fille* ***«Rimas»*** *qui je la souhaite une langue vie pleine de joie et de réussite.*

A mes adorables et charmantes sœurs : ***«Imene»****, son époux et ses enfants :* ***Malak*** *et* ***Abderahmen*** *; et ma petite sœur* ***«Amina»*** *qui je la souhaite beaucoup de réussite dans ses études.*

A mes très chers frères ***«Mohamed et Chouaib»*** *à qui je souhaite beaucoup de réussite dans ses études.*

A tous les membres de ma famille et de ma belle famille, veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

A mes chères amies : ***Meriem, Rahma, Sarah, Malak, Hadjer, Radhia, Houda, Razika et Fatima.***

A toutes mes copines qui sont très chères à moi, à tous ceux qui j'aime et qui m'aime.

Glossaire

(Dictionnaire médical 6ème édition).

Anthrax : Inflammation de nature infectieuse, circonscrite, dure et douloureuse, du tissu sous-cutané par suite de l'agglomération de plusieurs furoncles. L'évolution se fait vers la suppuration et la nécrose. Elle est due au staphylocoque doré.

Arthrite : C'est une inflammation aigue ou chronique des articulations dont l'origine est rhumatismale ou infectieuse.

Clumping factor : est un récepteur pour le fibrinogène qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Cette adhésine joue un rôle dans des infections des plaies et les infections sur corps étranger.

Endocardite : c'est une inflammation aigue ou chronique de l'endocarde (structure et enveloppe interne du cœur, incluant les valves cardiaques). Elle peut être localisée au niveau des différentes valvules du cœur (endocardite valvulaire) ou étendue aux parois (endocardite pariétale).

Épididymite : Inflammation de l'épididyme.

Folliculite : Inflammation du follicule pilosébacé.

Furoncle : Infection aigue d'un follicule pileux sébacé. Un furoncle est une folliculite due à une infection par un staphylocoque doré. L'ensemble du follicule pileux est alors nécrosé et rempli de pus. La réunion de différents furoncles constitue un anthrax.

Impétigo : Infection cutanée contagieuse due au streptocoque et/ou au staphylocoque, caractérisée par des pustules qui donnent lieu à des croûtes jaunâtres et épaisses, dites « mélicériques » qui ont tendance à se propager et qui tombent sans laisser de cicatrices. L'impétigo est très fréquent chez les enfants.

Macule : Lésion dermatologique de couleur rouge, non saillante.

Ostéomyélite : Inflammation suppurative de l'os et de la moelle osseuse, due au staphylocoque.

Rash : Éruption cutanée passagère, de causes diverses (maladie infectieuse, réaction allergique, etc.).

Sphingomyéline : Sphingolipide qui, par hydrolyse, se décompose en sphingosine, choline, un acide gras et l'acide phosphorique. On le trouve dans le cerveau, la moelle épinière, le rein et le jaune d'œuf.

Thrombophlébite: Inflammation d'une veine associée à une thrombose.

Urétrite : Inflammation aiguë ou chronique de l'urètre.

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection.

BCP : Bromo Crésol Pourpre.

β-lactamines : Béta lactamines.

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

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Méti-R : Méticillino Résistant.

Méti-S : Méticillino Sensible.

MLS : Macrolides, Lincosamides, Streptogramines.

MRSA : Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*.

MSSA : Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*.

PLP : Protéine de liaison aux pénicillines.

PVL : Leucocidine de Panton Valentine.

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline.

SASM : *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méthicilline.

SCC : Staphylococcal Cassette Chromosome.

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative.

SCTS : Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique.

TCT : Toxine du Choc Toxique.

TSST : Toxic Shock Syndrome Toxin.

Liste des figures

Figure 01: Staphylocoques en grappe de raisin sous la coloration Gram…….……...…....03

Figure 02 : Facteurs de virulence de *S. aureus*……..04

Figure 03: Structure de la paroi des staphylocoques……..…….….04

Figure 04 : Mode d'action des antibiotiques……10

Figure 05 : Schéma explicatif du mécanisme d'excision et d'intégration de SCCmec…….16

Figure 06: Lame à numération (KOVA)……...…20

Figure 07 : Disposition des disques d'antibiotiques……..……...……26

Figure 08: Résultat de diffusion du disque de céfoxitine…….……..…..27

Figure 09 : Résultat du screening test…….……..28

Figure 10 : Résultat de l'E-test……...…….…….28

Figure 11 : Pourcentage des germes isolés des différents prélèvements……..…….……..29

Figure 12 : Répartition de staphylocoques selon le sexe……..……..…..31

Figure 13 : Fréquence des staphylocoques par rapport aux autres germes……...……...31

Figure 14 : Répartition des staphylocoques selon les espèces…….……32

Figure 15 : Pourcentage des souches *S.aureus* et SCN isolées des différents prélèvements.....32

Figure 16: Répartition des souches de *S.aureus* selon les produits pathologiques…….....33

Figure 17: Répartition des souches de S.aureus selon le sexe…….……33

Figure 18: Répartition des SCN selon les produits pathologiques……..34

Figure 19: La répartition des SCN selon le sexe……..34

Figure 20: Taux des souches MRSA et MSSA…….....….35

Figure 21: Antibiogramme des souches MRSA……..…….…..35

Figure 22: Antibiogramme des souches MSSA…….…….35

Figure 23: Répartition des MRSA selon les produits pathologiques…….……..…35

Figure 24: Répartition des MRSA selon le sexe…….....…..36

Figure 25: Pourcentage de résistance des MSSA aux antibiotiques……..……..…36

Figure 26: Pourcentage de résistance des MRSA aux antibiotiques…….……..…37

Figure 27: Pourcentage de résistance des SCN aux antibiotiques…….…….38

Liste des tableaux

Tableau I : Caractères biochimiques de *S.aureus*……..03

Tableau II : Répartition des prélèvements en fonction de l'origine des patients……..18

Tableau III : Interprétation de l'examen cytobactériologique des urines…….….20

Tableau IV : Répartition de staphylocoques en fonction de prélèvements…….29

Tableau V : Résultats de l'identification des isolats…….30

Tableau VI : Les antibiotiques testés pour les staphylocoques.

Tableau VII: Concentrations critiques et diamètres critiques pour *Staphylococcus* spp.

Résumé

Dans notre travail on s'est intéressé à l'étude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques courants impliqué dans les infections nosocomiales et communautaires à laboratoire privé à Blida pendant une période de trois mois.

Au total, 350 échantillons ont été prélevés à partir de pus, des urines et du sperme provenant de malades externes et hospitalisés.

L'étude a permis d'isoler 63 souches de staphylocoques (30 souches de *Staphylococcus aureus* et 33 souches de staphylocoques à coagulase négatif).

Parmi les souches de *Staphylococcus aureus* isolées, nous avons déterminé un taux de 33,33% pour les souches résistantes à l'oxacilline. Par contre, toutes ces souches étaient résistantes aux bétalactamines. La résistance à l'oxacilline était souvent associée à d'autres familles d'antibiotiques.
Les souches de *Staphylococcus aureus* isolées avaient un taux de résistance élevé vis-à-vis de la pénicilline G (80%). Par contre, elles étaient sensibles aux macrolides (gentamycine et tobramycine) et aux fluroquinolones (ciprofloxacine).

Les souches de staphylocoques à coagulase négative présentaient des taux de résistance plus élevés comparativement à celles de *Staphylococcus aureus* étudiées.

Mots clés : Staphylocoques, multirésistance, *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline, staphylocoques à coagulase négative, urine, sperme, pus.

ملخص

في دراستنا قمنا بتسليط الضوء على مقاومة المكورات العنقودية للمضادات الحيوية الشائعة المتسببة في عدوى المستشفيات و العيادات الخارجية، التي اجريت في مختبر خاص بالبليدة لمدة ثلاثة أشهر.

في المجموع 350 عينة تم جمعها من القيح والبول والسائل المنوي من مرضى المستشفى و مرضى العيادات الخارجية.

الدراسة سمحت بعزل 63 سلالة من المكورات العنقودية (30 سلالات من المكورات العنقودية الذهبية و 33 سلالات من المكورات العنقودية البيضاء).
من بين سلالات من المكورات العنقودية الذهبية المعزولة، توصلنا الى نسبة 33.33٪ للسلالات المقاومة للأوكساسيلين. مقابل كل هذه السلالات كانت مقاومة للبيتالكتامين. وغالبا ما ترتبط مقاومة الأوكساسيلين مع فئات أخرى من المضادات الحيوية.

كان للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة نسبة عالية من المقاومة للبنسلين G (80٪). مقابل كانت حساسة للماكروليدات (جنتاميسين وتوبراميسين)، والفلوروكينولونات (سيبروفلوكساسين).

وأظهرت سلالات من المكورات العنقودية البيضاء أعلى معدلات المقاومة مقارنة مع أولئك من المكورات العنقودية الذهبية التي شملتها الدراسة.

الكلمات الدالة :

المكورات العنقودية، المقاومة المتعددة، المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميتيسيلين، المكورات العنقودية البيضاء، قيح، بول، سائل منوي.

Abstract

In our work we are interested in the study of staphylococcal resistance to common antibiotics implicated in nosocomial and community infections in Blida private laboratory for a period of three months.

In total 350 samples were collected from pus, urine and semen from external and inpatients.

The study of staphylococcal resistance to antibiotics using the method of agar diffusion was used to isolate 63 strains of staphylococci (30 *Staphylococcus aureus* and 33 strains of coagulase-negative staphylococci).

Study isolating allowed 63 strain of *Staphylococcus aureus* (30 strains of *Staphylococcus aureus* and 33 strains of *Staphylococcus aureus* white).

Among strains of *Staphylococcus aureus* isolated, we determined a rate of 33.33% for oxacillin-resistant strains. As against all these strains were resistant to beta-lactams. Resistance to oxacillin was often associated with other classes of antibiotics.

Staphylococcus aureus isolated had a high rate of resistance to screw-penicillin G (80%). By cons, they were susceptible to macrolides (gentamicin and tobramycin), and fluoroquinolones (ciprofloxacin).

Strains of coagulase-negative staphylococci showed higher resistance rates compared to those of *Staphylococcus aureus* studied.

Keywords:
Staphylococcus, Multidrug, Méthicillin-resistant *staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, urine, semen, pus.

Sommaire

INTRODUCTION……..…….1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. STAPHYLOCOQUES..……...…...……2
I.1. Historique…….....……...2
I.2. Classification……...…….……2
I.3. *Staphylococcus aureus*…….……..2
I.3.1. Habitat…….……..…2
I.3.2. Caractères morphologiques…….…2
I.3.3. Caractères culturaux……..…3
I.3.4. Caractères biochimiques…….. 3
I.3.5. Facteurs de virulence……..…3
I.3.5.1. Constituants de la paroi……...…4
I.3.5.2. Substances élaborées……4
I.3.6. Pouvoir pathogène……7
I.3.6.1. Lésions suppurées……7
I.3.6.2. Septicémies et endocardites……..……7
I.3.6.3. Manifestations d'origine toxique ……7
I.3.6.4. Syndrome de choc toxique (TSS)……7
I.3.7. Autres Staphylocoques…….……...8

II. ANTIBIOTIQUES…….……..……9
II.1. Définition d'un antibiotique……...……9
II.2. Classification des antibiotiques……..…9
II.2.1. Classification selon leur spectre d'action…….9
II.2.2. Classification selon leur type d'action……...…9
II.2.3. Classification selon leur mode d'action……9
II.3. Principaux familles d'antibiotiques et leur mode d'action……..10
II.3.1. Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane……..10
II.3.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique……...……11
II.3.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques…….……11
II.3.4. Antibiotiques agissant sur les membranes……...……11

III. RESISTANCE BACTERIENNE……12
III.1. Définition de la résistance……...…12
III.2. Caractères de la résistance……..…12
III.2.1. Résistance naturelle……...…12
III.2.2. Résistance acquise……...……...…12
III.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques……...……12

III.3.1. Inactivation de l'antibiotique……13
III.3.2. Modification de la cible……13
III.3.3. Diminution de la perméabilité……14
III.3.4. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux……15
III.4. Evolution de la résistance aux antibiotiques……15
III.4.1. Sélection de la résistance……15
III.4.2. Diffusion de la résistance……15
III.5. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)……16
III.5.1. Mécanisme de la résistance à la méticilline……16
III.5.2. Traitement des SARM……17

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES……18
I.1. Matériel……18
I.1.1. Matériel non biologique……18
I.1.2. Matériel biologique……18
I.2. Méthodes……19
I.2.1. Etude cytobactériologique des urines……19
I.2.2. Etude cytobactériologique de pus……21
I.2.3. Etude cytobactériologique du sperme……22
I.2.4. Isolement des souches de staphylocoques……23
I.2.5. Identification des souches de staphylocoques……23
I.2.6. Etude de la sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques……25
I.2.6.1. L'antibiogramme……25
I.2.6.2. Recherche de la résistance à l'oxacilline……26

II.RESULTATS ET DISCUSSION……29
II.1. Résultats……29
II.1.1. Les germes isolés dans divers prélèvements……29
II.1.2. Résultats de l'identification de staphylocoques……30
II.1.3. Etude des souches de staphylocoques isolées……30
II.1.4. Prévalence des souches *S.aureus*……32
II.1.5. Prévalence des souches des staphylocoques à coagulase négative……33
II.1.6. Résistance à l'oxacilline et taux de MRSA……34
II.1.7. Etude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques……36

II.2. Discussion……39

CONCLUSION ET PERSPECTIVES……43

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Introduction

Les staphylocoques sont des bactéries à Gram positif responsables de 30% des infections nosocomiales et communautaires (Ishaku et Sunday, 2012). Ces infections sont dues d'une part à *Staphylococcus aureus* qui se différencie de la majorité des autres espèces par la production d'une coagulase et qui est responsable d'infections suppuratives et d'infections toxiniques (Ishaku et Sunday, 2012). De ce fait, elles représentent un problème de santé publique majeur (Montesinos et *al.*, 2002; Gould, 2005). D'autre part, aux staphylocoques à coagulase négative responsables principalement d'infections sur matériel étranger, la plupart étant dues à *Staphylococcus epidermidis* (Vandenesch et *al*., 2007).

Staphylococcus aureus, est une bactérie ubiquitaire que l'on retrouve fréquemment sur la peau et dans les narines des personnes. Elle est douée d'une grande capacité d'acquérir et d'exprimer un large éventuel de facteurs de virulence et de résistance aux antibiotiques (Lowy, 1998 ; Shore et *al.*, 2008). Actuellement, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline est l'une des premières bactéries multirésistantes responsable d'infections nosocomiales.

La découverte des antibiotiques a longtemps fait croire que la bataille contre les infections d'origine bactérienne était gagnée. Malheureusement, le génie adaptatif des bactéries leur a permis de développer des résistances, favorisées par le mésusage des antibiotiques (Birgand et Lucet, 2013).

L'antibiothérapie est la pierre angulaire du traitement des infections à staphylocoques. L'apparition et l'extension de la résistance aux pénicillines M (méthicilline) rendent les choix difficiles. Les glycopeptides constituent la base des associations possibles dans l'infection grave à staphylocoques méti-R, essentiellement nosocomiale. En situation communautaire, les pénicillines M restent les antibiotiques de choix des infections à staphylocoques meti-S, seuls ou associés aux aminosides. L'association amoxicilline-acide clavulanique constitue une alternative possible.

Néanmoins, l'utilisation raisonnée des antibiotiques associée à des mesures d'hygiène rigoureuses, sont essentielles à la prévention de ces épidémies hospitalières à staphylocoques méti-R (Batard et Potel, 2006).

L'objectif de cette étude était de diagnostiquer les staphylocoques isoler à partir de prélèvements divers à savoir : pus, urine et sperme provenant de malades externes et hospitalisés sur une période de trois mois et à évaluer la résistance de ces souches (MRSA/MSSA/SCN) vis-à-vis des antibiotiques courants.

La démarche expérimentale s'articule autour de ces principaux points:

- Faire un diagnostic des staphylocoques provenant de différents prélèvements (regroupant des patients externes et des patients hospitalisés).
- Identifier les souches isolées à partir du test de coagulase.
- Déterminer la prévalence des souches de staphylocoques et des souches MRSA.
- Etablir un antibiogramme en déterminant le pourcentage de résistance des souches de staphylocoques.

Partie bibliographique

I. STAPHYLOCOQUES

I.1.Historique

Staphylococcus a été découvert par Pasteur en 1880 dans un pus. En 1883, Ogston a désigné ce microorganisme par le nom Staphylocoque pour décrire ces grains (kokos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos).

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Le genre *Staphylococcus* a été scindé en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées (Avril et *al*., 1992).

I.2.Classification (Delarras, 2007)

- Domaine : *Bacteria ou Eubacteria*.
- Phylum XIII : *Firmicutes.*
- Classe : *Bacilli.*
- Ordre : *Bacillales.*
- Famille : *Staphylococcaceae.*
- Genre : *Staphylococcus* (regroupant trente-huit espèces et sous-espèces).

I.3.*Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des Cocci à Gram positif qui tendent à se regrouper en amas. Ils produisent une catalase et sont aéro-anaérobie facultatifs et immobiles. Une espèce, *Staphylococcus aureus* (ou staphylocoque doré), occupe une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales. Elle produit une coagulase, ce qui la distingue des autres espèces de ce genre appelées staphylocoques à coagulase négative (Nauciel, 2000 ; Fauchère et Avril, 2002).

I .3.1.Habitat

S.aureus est un germe ubiquitaire que l'on peut retrouver partout dans le sol, les poussières, les eaux…. (Le Minor et Véron, 1989).

La bactérie est très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'homme environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides (Nauciel, 2000).

I.3.2.Caractères morphologiques

Dans le pus, *S.aureus* se présente sous l'aspect de coques en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chainettes (3 à 5 éléments) mesurant 0,8 à 1µm. Sur les cultures en milieu solide, cette espèce se présente sous la forme «grappe de raisin». Tandis qu'en milieu liquide, elle est souvent isolée en diplocoque (Le Minor et Véron, 1989). Elle est immobile, non sporulée, elle ne possède pas de capsule visible au microscope optique sauf dans de très rares souches, d'autres sont entourées d'une pseudocapsule (Le Minor et Véron, 1989 ; Fauchère et Avril, 2002).

La figure ci-dessous explique l'aspect caractéristique «en grappe de raisin».

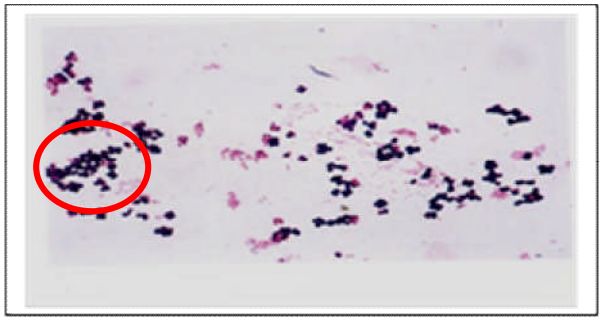


Figure 01 : Staphylocoques en grappe de raisin sous la coloration Gram (Spicer, 2003).

I.3.3.Caractères culturaux

S.aureus est aérobie anaérobie facultatif et pousse facilement sur milieu ordinaire. Certains facteurs de croissance sont indispensables comme la vitamine B1 et l'acide nicotinique. Ce microorganisme n'exige pas de biotine ni de tryptophane. La température de croissance est de 37°C mais la culture est possible entre 10 et 45°C, avec un pH optimal de 7,5. Elle produit un pigment jaune doré (Le Minor et Véron, 1989).

I.3.4.Caractères biochimiques

Ce qui caractérise mieux l'espèce aureus c'est la production d'une staphylocoagulase, enzyme facile à mettre en évidence au laboratoire (Fauchère et Avril, 2002). Les principaux caractères biochimiques sont résumés dans le tableau suivant :

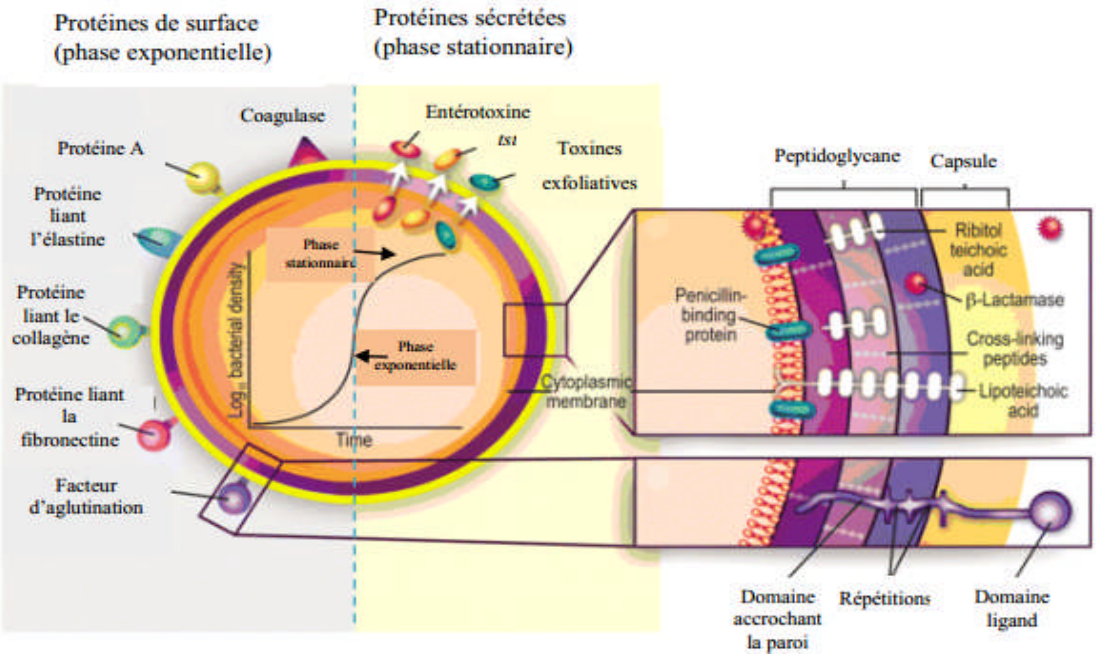
Tableau I : Caractères biochimiques de *S.aureus*

Caractère	S.aureus
Oxydase	-
Catalase	+
Coagulase	+
Fermentation du glucose sans production de gaz	+
Fermentation du mannitol	+
Production d'indole	+
Uréase	+
Nitrate réductase	+
Réduction de tellurite de potassium en tellure	+

(Garrity, 1999)

I.3.5. Facteur de virulence

L'expression coordonnée des facteurs de virulence de *S. aureus* en facteurs des signaux extracellulaires est un élément essentiel de la pathogénicité de l'infection à staphylocoque. Des constituants de la paroi et des substances enzymatiques ou toxiques produites par *S.aureus* sont des facteurs de virulence (Fig. 02) (Megue et *al*., 1997 ; Fauchére et Avril, 2002).

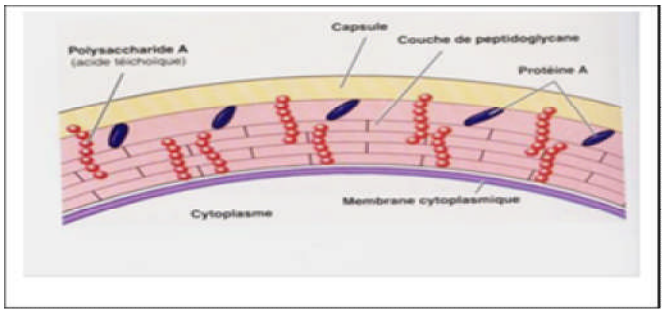


<u>Figure 02</u> : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Gordan et *al*., 2008)

I.3.5.1. Constituants de la paroi

Plusieurs substances de la paroi des staphylocoques jouent un rôle dans les réactions immunologiques. Le peptidoglycane et les acides téchoiques induisent la production de cytokines impliquées dans le choc infectieux (Avril et *al*., 2000 ; Vandenesch et *al*., 2003).

La protéine A liée au peptidoglycane fixe le fragment FC des immunoglobulines G (Fig. 03) (Avril et *al*., 2000 ; Singleton, 2004).



<u>Figure 03:</u> Structure de la paroi des staphylocoques (Spicer, 2003).

I.3.5.2.Substances élaborées

Toutes les souches de *S. aureus* produisent des protéines excrétées dans le milieu extracellulaire et sont douées soit d'une activité enzymatique, soit d'une activité toxique; mais la distinction entre ces deux formes d'activité biologique est souvent difficile (Le Minor et Véron, 1989).

Toxines de *S. aureus*

a. Hémolysines

- **Alpha-hémolysine ou α-toxine**

De nature protéique, thermostable, elle induit la formation d'Ac neutralisants (Le Minor et Véron, 1989). Cytotoxique et cytolytique pour une grande variété de types cellulaires, elle agit sur de nombreuses membranes cellulaires (érythrocytes, leucocytes, plaquettes, fibroblastes) et entraînerait la formation de canaux intra membranaires créant des troubles osmotiques et une lyse permettant le passage de molécules de petite taille (Avril et *al.*, 1992).

- **Béta-hémolysine ou β-toxine**

Thermolabile, elle provoque une hémolyse accrue en présence de souches de *Streptococcus agalactiae* (Avril et *al*., 1992). Il s'agit d'une phospholipase de type C, active sur les sphingomyeline, d'où son nom de sphingomyélinase (Le Minor et Véron, 1989).

- **Gamma-hémolysine ou γ-toxine**

Elle comporte deux facteurs I et II agissant en synergie (Avril et *al*., 1992). Elle hémolyse les érythrocytes et provoquerait une rupture lysosomiale (Le Minor et Véron, 1989).

- **Delta-hémolysine ou δ-toxine**

De nature protéique, thermostable (Véron et Le Minor, 1989), elle contient des AA hydrophobes et hydrophiles et agit comme un détergent sur les membranes cytoplasmiques (Avril et *al*., 1992).

b. Leucocidine de Panton Valentine (PVL)

La PVL est formée de deux sous-unités, S et F, qui agissent de façon synergique dans la lyse de la membrane cellulaire des leucocytes (polynucléaires, monocytes et macrophages). La libération d'enzymes et de médiateurs de l'inflammation contribue à la mort cellulaire, objectivée macroscopiquement par une nécrose tissulaire (Nhan et *al*., 2012). Elle possède un rôle important dans la formation du pus (Vincenot et *al*., 2008).

c. Entérotoxines

Elles sont responsables d'intoxication alimentaires (Avril et *al*., 1992). Elles sont au nombre de 7 : A, B, C1, C2, C3, D et E (Véron et Le Minor, 1989), ce sont des protéines thermostables, insensibles aux enzymes protéolytiques du suc digestif (Berche et *al*., 1988).

d. Exfoliatine ou épidermolysine

Produite par certaines souches de *S.aureus,* on distingue deux sérotypes A et B : le gène codant du sérotype A est chromosomique et celui codant le sérotype B est plasmidique (Avril et *al*., 1992).

La cible majeur de ces toxines est une protéine importante des desmosomes de la peau, d'où leur nom épidermolysine (Vincenot et *al*., 2008).

e. Toxine du Choc Toxique (TCT-1)

Ce sont des enzymes sensible aux enzymes protéolytiques (Avril et *al*., 1992). Cette toxine est responsable du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique (SCTS) (Fauchère et Avril, 2002).

- **Enzymes de *S.aureus***

Ces enzymes ont un intérêt pathogénique et/ou diagnostique important (Avril et *al*., 1992).

a. Coagulase libre

S.aureus produit une substance capable de coaguler en quelques heures le plasma humain. Cette substance est thermostable, secrétée pendant la phase exponentielle de croissance du germe (Véron et Le Minor, 1989). Elle joue un rôle dans la formation de thrombophlébites suppurées et inhiberait la phagocytose (Avril et *al*., 1992).

b. Coagulase liée ou clumping factor

Il s'agit d'une substance fixée à la surface de la cellule, diffusible dans le milieu après autolyse, et réagissant directement avec le fibrinogène. Cette réaction est mise en évidence sur lame en présence de plasma et entrainerait une agglutination des staphylocoques (Le Minor et Véron, 1989).

c. Fibrinolysine ou staphylokinase

C'est une substance activatrice du plasminogène en plasmine (action semblable à celle de la streptokinase), agissant sur le plasma humain et celui du lapin. Cette activité est mise en évidence sur des plaques de gélose contenant de la fibrine (zone d'éclaircissement) (Avril et *al.*, 1992).

d. Hyaluronidase

Cette enzyme thermolabile hydrolyse l'acide hyaluronique. Elle fluidifie la substance fondamentale du tissu conjonctif permettant ainsi la diffusion de la bactérie dans l'organisme (Avril et *al*., 2000).

e. Nucléase

La nucléase (ADNase) de *S. aureus* est thermostable, alors que celle des autres espèces bactériennes est thermolabile (Avril et *al*., 1992). Cette nucléase possède des propriétés endo et exonucléasique et est active sur les ADN et les ARN. Elle est produite par la plupart des souches de *S.aureus* (Le Minor et Véron, 1989).

f. Lactamase

Elle inactive les β-lactamines et joue un rôle important dans la résistance des souches de staphylocoques à ces antibiotiques (β-lactamines) (Avril et *al*., 2000).

g. Autres activités enzymatiques

D'autre enzymes sont excrétées par *S. aureus* comme les protéases, les lipases, estérase et phosphatases qui lysent les tissus et peuvent faciliter l'infection des tissus adjacents (Avril et *al*., 2000).

I.3.6. Pouvoir pathogène

Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variées. Elles sont suppuratives, nécrotiques ou entériques (Avril et *al.*, 1992 ; Fauchère et Avril, 2002).

I.3.6.1. Lésions suppurées

Les plus fréquentes sont cutanées et sous-cutanées : folliculite, furoncle, anthrax, impétigo bulleux, panaris, surinfection de plaies traumatiques ou postopératoires. *S. aureus* est aussi responsable de mastites chez les femmes qui allaitent (Avril et *al*., 1992 ; Nauciel, 2000).

S.aureus possède également une place dominante dans les infections osseuses primitives (ostéomyélite) ou post-chirurgicales, ainsi que dans les arthrites suppurées. Des atteintes pulmonaires peuvent s'observer notamment chez les nourrissons (Nauciel, 2000).

I.3.6.2. Septicémies et endocardites

Les lésions suppuratives peuvent se compliquer en septicémie. Une forme particulière est la staphylococcie maligne de la face. Elle a pour origine un furoncle de la lèvre ou de la narine qui se complique d'une thrombophlébite suppurée (Nauciel, 2000). Les septicémies à *S. aureus* se compliquent volontiers de métastases septiques notamment au niveau du poumon et de l'appareil ostéo-articulaire, plus rarement au niveau de l'appareil urinaire ou du système nerveux central (Nauciel, 2000).

L'endocardite staphylococcique s'observe notamment chez les patients porteurs de valves cardiaques artificielles (Avril et *al*., 1992).

I.3.6.3. Manifestations d'origine toxinique

Elles sont dues à l'ingestion d'entérotoxines (A et E), préformées dans l'aliment, résistant aux sucs digestifs, entrainant des troubles d'apparition précoce (moins de 3 heures) avec vomissements, diarrhées, déshydratation et absence de fièvre (Avril et *al*., 1992). L'évolution est bénigne, sauf en cas de pertes hydro-électrolytiques importantes (sujets âgés et nourrisson) (Avril et *al*., 1992 ; Fauchère et Avril, 2002).

I.3.6.4. Syndrome de choc toxique (TSS)

Ce syndrome associe une fièvre, une hypotension, un rash maculaire érythémateux suivi d'une desquamation scarlatiniformes. Des diarrhées accompagnées de signes de défaillance polyviscérale (cérébrale, rénale, hépatique et musculaire). Les hémocultures sont stériles (Avril et *al*., 1992 ; Fauchère et Avril, 2002).

Ce syndrome est lié à l'action de la toxine staphylococcique, TSST-1 (Toxic Shock Syndrome Toxin-1) ou à certains sérotypes d'entérotoxines (Avril et *al*., 1992 ; Fauchère et Avril, 2002).

I.4. Autres Staphylocoques

Ils sont parfois désignés sous le nom de staphylocoques à coagulase négative (SCN). Leur identification repose sur des caractères biochimiques. L'espèce la plus couramment isolée est *Staphylococcus epidermidis* (Nauciel, 2000).

- ***Staphylococcus epidermidis***

C'est un commensal de la peau et des muqueuses. Il peut contaminer des prélèvements superficiels et même des prélèvements obtenus par ponction transcutanée (comme les hémocultures).

S.epidermidis peut se comporter comme une bactérie opportuniste et provoquer des infections chez les sujets porteurs de matériel étranger. Cette bactérie a en effet la propriété de former des biofilms sur du matériel étranger. Les souches acquises en milieu hospitalier sont souvent très résistantes aux antibiotiques (Nauciel, 2000).

- ***Staphylococcus haemolyticus***

Il est parfois impliqué dans des infections urinaires basses (Nauciel, 2000).

II. ANTIBIOTIQUES

II.1. Définition d'un antibiotique

Un antibiotique est une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est-à-dire produite par un microorganisme (champignon microscopique et bactérie) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes (Boulahbal, 2006).

II.2. Classification des antibiotiques

Pour classifier ou grouper les antibiotiques**,** différentes approches ont été suggérées. On peut les classer selon : leur spectre d'action, leur type d'action, leur origine, leur mode d'action et leur structure chimique (Sabine, 1995 ; Bergogne-Benzin et Brogar, 1999).

II.2.1. Classification selon leur spectre d'action

Les antibiotiques exercent une activité inhibitrice ou destructrice sur des espèces bactériennes. On dit qu'ils sont à large spectre lorsqu'ils agissent sur de nombreuses espèces bactériennes, par exemple quand leur pouvoir s'étend aux bactéries à Gram positif et à Gram négatif. On dit qu'ils sont à spectre étroit ou à action spécifique lorsqu'ils n'agissent que sur un type d'espèces bactériennes donné : par exemple, sur les bactéries à Gram positif, ou encore sur certaines espèces de celles-ci (Sabine, 1995 ; Fauchère et Avril, 2002 ; Boulahbal, 2006).

II.2.2. Classification selon leur type d'action

Il existe deux catégories d'antibiotiques (Sabine, 1995 ; Bergogne-Benzin et Brogar, 1999 ; Boulahbal, 2006) :

- Les antibiotiques à effet bactériostatique qui inhibent la croissance bactérienne en ralentissant puis en arrêtant la multiplication.
- Les antibiotiques bactéricides qui lysent les bactéries.

❖ **Bactéricides**

Des antibiotiques ayant une action létale sur les bactéries sont dites bactéricides (ou à effet bactéricide). Pour les champignons, de telles substances sont fongicides (Delarras, 2007).

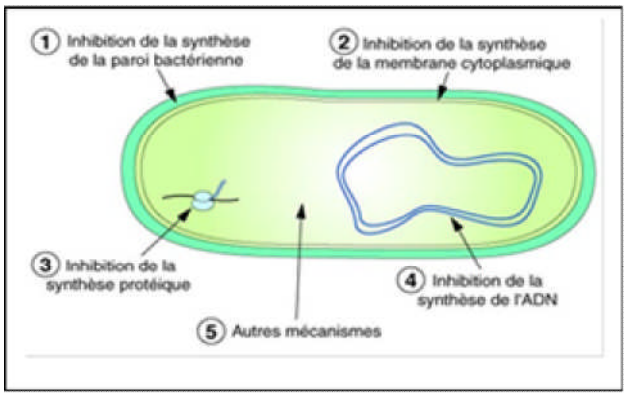
❖ **Bactériostatique**

Des antibiotiques ayant une action inhibitrice sur la croissance des bactéries sont dites bactériostatiques (ou à effet bactériostatique). Pour les champignons, elles sont fongistatiques (Delarras, 2007).

II.2.3. Classification selon leur mode d'action

La plupart des antibiotiques inhibent des voies métaboliques de la bactérie. Chaque famille d'antibiotique possède son site d'action propre. Selon Sabine (1995) et Nauciel (2000), on distingue :

- Des antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane.
- Des antibiotiques inhibant la synthèse protéique.
- Des antibiotiques agissant sur les acides nucléiques.
- Des antibiotiques agissant sur les membranes.



<u>Figure 04</u> : Mode d'action des antibiotiques (www.bactériologie.net).

II.3. Principaux familles d'antibiotiques et leur mode d'action :

Selon Nauciel (2000), on distingue :

II.3.1.Antibiotiques agissant sur la synthèse du peptidoglycane

Les β-lactamines et les glycopeptides bloquent la phase finale de polymérisation.

a. Les β-lactamines : Elles ont en commun un noyau β-lactame. Cette famille comprend :

- *Les pénicillines* **:** Elles possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β-lactame.
  - Pénicilline G : première pénicilline découverte.
  - Pénicilline M :méticilline, oxacilline et cloxacilline.
  - Pénicilline A (Aminopénicilline) : Ampicilline et amoxicilline.
  - Carboxypénicilline : ticarcilline.
  - Inhibiteurs des β-lactamases **:** l'acide clavulanique (associé à l'amoxicilline).
- *Les céphalosporines (céphèmes*) : sont constituées d'un noyau β-lactame associé à un noyau de dihydrothiazine.
  - **Céphalosporines de 1ergénération :** céfalotine.
  - **Céphalosporines de 2^{e}génération :** céfoxitine.
  - **Céphalosporines de 3^{e} génération :** céfotaxime.
- *Les monobactames et les carbapénèmes***.**

b. Les glycopeptides : Ce groupe comprend la vancomycine et la teicoplanine.

c. Fosfomycine

II.3.2. Antibiotiques inhibant la synthèse protéique

Plusieurs familles d'antibiotiques peuvent inhiber, par différents mécanismes, l'élongation de la chaine polypeptidique chez les bactéries.

. Les aminosides (ou aminoglycosides) : la streptomycine, la gentamycine, la netilmicine, la tobramycine et l'amikacine.

. Les tétracyclines : tétracycline et doxycycline.

. Les phénicols : le chloramphénicol et le thiamphénicol.

. Les macrolides, les lincosamides et streptogramines : l'érythromycine, la clindamycine…etc

II.3.3. Antibiotiques agissant sur les acides nucléiques

. Les sulfamides et triméthoprime.

. Les quinolones

- **Les quinolones de 1^{ere} génération :** l'acide nalidixique.
- **Les quinolones de 2^{e} génération (ou fluroquinolones) :** la ciprofloxacine.

. Les nitro-imidazoles : la métronidazole.

. Les rifamycines : la rifampicine.

II.3.4. Antibiotiques agissant sur les membranes

. Les polymyxines : la colistine.

. Les nitrofuranes : la nitrofurantoine, la nifuroxazide et la nifurzide.

III. RESISTANCE BACTERIENNE

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. Cette résistance est un facteur majeur compliquant le traitement des infections bactériennes et la dissémination des souches multi-résistantes (Mohamedi et *al*., 2001).

III.1. Définition de la résistance

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné, quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique plus élevée que celle active sur les souches de cette espèce (Leclercq et *al*., 1995).

III.2. Caractère de la résistance

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise.

III.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle est présente chez tous les membres d'une même espèce ou d'un même genre bactérien. Elle est liée à son patrimoine génétique (Nauciel, 2000 ; Mohamedi et *al*., 2001).

III.2.2. Résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (Mohamedi et *al*., 2001).

a. Résistance chromosomique

La mutation se produit au moment de la réplication du chromosome bactérien : elle résulte de la perte d'un ou de plusieurs nucléotides, d'une substitution ou de l'insertion d'un nouveau segment d'ADN. La mutation est un changement ou une altération d'un gène bactérien ; elle a donc un caractère héréditaire et permanant. On peut dire cependant que la mutation chromosomique est un phénomène rare, si l'on considère la fréquence ou le taux de mutation (Sabine, 1995).

b. Résistance extra chromosomique

Elle est due à l'acquisition de particules d'ADN par la bactérie. Ces éléments d'ADN extra chromosomiques sont les plasmides, les transposons et les intégrons (Sabine,1995 ; Fauchére et Avril, 2002).

III.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

On peut classer les mécanismes de résistance en 4 groupes : l'inactivation de l'antibiotique, la modification de la cible, la diminution de la perméabilité membranaire et l'excrétion de l'antibiotique (Mouton et *al*., 2000 ; Nauciel , 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

III.3.1. Inactivation de l'antibiotique

C'est l'un des mécanismes le plus souvent mis en cause (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

a. Bétalactamases

Ce sont des enzymes qui inactivent les bétalactamines par ouverture du noyau bétalactame. Il en existe une grande variété et leur classification pose des problèmes. On peut les classer suivant les bétalactamines qu'elles hydrolysent de manière préférentielle (par exemple pénicillinase, céphalosporinase) (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

Des mutations au niveau des gènes des bétalactamases peuvent modifier leurs propriétés :

- Leur niveau de production peut être augmenté.
- Leur spectre d'activité peut se modifier.
- Enfin les bétalactamases peuvent acquérir une résistance à leurs inhibiteurs.

b. Enzymes inactivant les aminosides

On connait trois classes d'enzymes pouvant inactiver les aminosides : les acétyltransférases, les nucléotidyltransférases et les phosphotransférases.

Dans chaque classe, il existe différentes enzymes modifiant certains groupements présents sur les aminosides. Chaque enzyme possède donc son profil de substrat et va par conséquent donner naissance à un profil de résistance aux aminosides qui lui sont propre. Les gènes codant pour ces enzymes sont le plus souvent plasmidiques (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

c. Enzymes inactivant le chloramphénicol

Le chloramphénicol peut être inactivé par une chloramphénicol acétyltansférase, habituellement codée par un gène plasmidique (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

d. Enzymes inactivant les macrolides, lincosamides et synergistines

Diverses enzymes peuvent inactiver l'érythromycine, la clindamycine ou la streptogramine (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

III.3.2. Modification de la cible

a. Modification des PLP

La résistance à la méticilline (et à l'ensemble des bétalactamines) chez *S.aureus* est due à la présence d'une PLP (PLP2a) ayant une très faible affinité pour les béta lactamines. Cette nouvelle PLP est due à l'acquisition d'un gène chromosomique appelé *mec*A.

La baisse de sensibilité aux bétalactamines, chez le *pneumocoque* et chez les *Neisseria*, est due à une diminution de l'affinité de certaines PLP pour les bétalactamines (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

b. Modifications du précurseur du peptidoglycane

Le remplacement de la D-Ala terminale par un groupement lactate sur le précurseur du peptidoglycane entraine une résistance aux glycopeptides chez les entérocoques. L'affinité des glycopeptides pour la séquence D-Ala-D-lactate est en effet beaucoup plus faible que pour la séquence habituelle, D-Ala-D-Ala (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

c. Modifications du ribosome

La méthylation d'une adénine au niveau de l'ARN ribosomal 23S entraine la résistance aux macrolides, aux lincosamides et à la streptogramine B (résistance dite MLS_B) en empêchant leur fixation sur le ribosome.

Plus rarement la résistance à des antibiotiques agissant sur le ribosome peut être due à des mutations portant sur l'ARN ribosomal 23S ou sur des protéines ribosomales (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

d. Modifications des topoisomérases

Des mutations siégeant en général au niveau des gènes de la gyrase (*gyrA* ou plus rarement *gyrB*) entrainent une élévation des CMI qui concerne, à des règles divers, l'ensemble des quinolones (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

e. Modification de l'ARN-polymérase

La résistance aux rifamycines résulte habituellement de mutations portant sur la chaine β de l'ARN polymérase**.** la fréquence de ces mutations est élevée, c'est pourquoi il est déconseillé d'utiliser cette famille d'antibiotiques en monothérapie (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

f. Modifications des enzymes impliquées dans la synthèse des folates

Des modifications de la dihydroptérate synthétase peuvent diminuer son affinité pour les sulfamides et entrainer une résistance à ces produits. De même, des modifications de la dihydrofolate réductase peuvent entrainer une résistance au triméthoprime (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

g. Modification du facteur d'élongation G

Elles entrainent une résistance à l'acide fusidique. Les mutations responsables de ce phénomène sont fréquentes, c'est pourquoi il est déconseillé d'utiliser le produit en monothérapie (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

III.3.3. Diminution de la perméabilité

Les porines sont des protéines formant des pores dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif et permettant le passage de certaines molécules hydrophiles. Des mutations peuvent entrainer la parte de certaines porines et de ce fait entraver la pénétration de certains antibiotiques. Ces mutations peuvent entrainer la résistance à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément (Fauchère et Avril, 2002 ; Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

La fofomycine pénètre dans le cytoplasme des bactéries par l'intermédiaire du système de transport des glycéro-phosphates. Des mutations au niveau de ce système de transport entrainant la résistance à la fosfomycine. La fréquence des mutations étant élevée, il est déconseillé d'utiliser la molécule en monothérapie (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

III.3.4. Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux

Il existe chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains antibiotiques. Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle. Sous l'effet de mutations, leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaitre une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'antibiotiques (par exemple fluroquinolones et bétalactamines). Le phénomène a été décrit surtout chez les bactéries à Gram négatif (Nauciel, 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

III.4. Evolution de la résistance aux antibiotiques

III.4.1. Sélection de la résistance

Le pourcentage de souches résistantes à un antibiotique donné a souvent tendance à augmenter en fonction du temps d'utilisation de cet antibiotique. C'est le résultat de la pression de sélection des antibiotiques. En effet l'administration d'un antibiotique chez un individu entraine la disparition, ou la diminution, des bactéries sensibles à cet antibiotique et favorise de ce fait la prolifération des bactéries ayant acquis des gènes de résistance, et des espèces possédant une résistance naturelle. La résistance sélectionnée par un antibiotique peut toucher, à des degrés divers, l'ensemble de la famille d'antibiotiques correspondante. Lorsque la pression de sélection des antibiotiques diminue, on peut observer dans certains cas une diminution du pourcentage de souches résistantes (Nauciel, 2000).

La pression de sélection des antibiotiques est l'ensemble des conditions de l'environnement qui aboutissent à l'émergence des bactéries possédant des gènes de résistance. En pratique elle est directement liée à l'emploi des antibiotiques (Fauchère et Avril, 2002).

III.4.2. Diffusion de la résistance

Après la sélection de la résistance, divers facteurs peuvent contribuer à sa diffusion (Nauciel, 2000).

- **Diffusion de la résistance chez les bactéries**

Chez les bactéries, les gènes de résistance sont transmis à la descendance (transmission verticale). Ils peuvent aussi être transmis, par conjugaison ou transformation, à d'autres bactéries de la même espèce et plus rarement à des bactéries appartenant à des espèces différentes (transmission horizontale) (Nauciel, 2000).

- **Transmission interhumaine**

Les bactéries portant des gènes de résistance circulent dans la population humaine, en milieu communautaire (par exemple les pneumocoques de sensibilité diminuée aux bétalactamines) et plus

encore en milieu hospitalier. En milieu hospitalier, la situation est en effet aggravée par la forte pression de sélection des antibiotiques et par la transmission des bactéries par le personnel hospitalier, si les précautions d'hygiène ne sont pas assez strictes (Nauciel, 2000).

- **Transmission d'origine animale**

Chez les animaux domestiques, les antibiotiques ne sont pas utilisés seulement à titre thérapeutique, mais aussi comme additif dans l'alimentation. Des souches résistantes, ainsi sélectionnées chez l'animal, peuvent ensuite être transmises aux populations humaines (Nauciel, 2000).

III. 5. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM)

C'est au début des années 1960 que les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) sont apparues après introduction de la méticilline, première bêtalactamine résistantes aux pénicillinases (Scancic-Hameg et *al*., 2002).
Les *Staphylococcus aureus* sensibles (SASM) ou résistants à la méticilline (SARM) qui diffèrent par l'acquisition du gène de résistance à la méticilline (*mec*A). Pour les SARM sont des bactéries les plus fréquentes misent en cause dans les infections nosocomiales (IN) (Laudat et *al*., 2011).

III. 5. 1. Mécanisme de la résistance à la méticilline

Cette résistance est liée à la synthèse d'une protéine de liaison à la pénicilline, la PLP2a (protéine liant la pénicilline), qui entraîne une résistance à l'ensemble des bêtalactamines. PLP2a est une peptidoglycane-transpeptidase qui n'a qu'une faible affinité pour les bêtalactamines et permet la poursuite de la synthèse de la paroi bactérienne .La synthèse de cette PLP2a est sous lecontrôle du gène *mec*A, localisé sur un élément génétique mobile chromosomique, appelé *staphylococcal cassette chromosome mec*, ou SCC*mec*, bordé ,à ses deux extrémités, par des gènes intitulés *cassette chromosome recombinase* (*ccR*A/*ccR*B ou *ccR*C), qui permettent la transmission horizontale inter et intra-espèce de SCC*mec* (Tattevin, 2011).

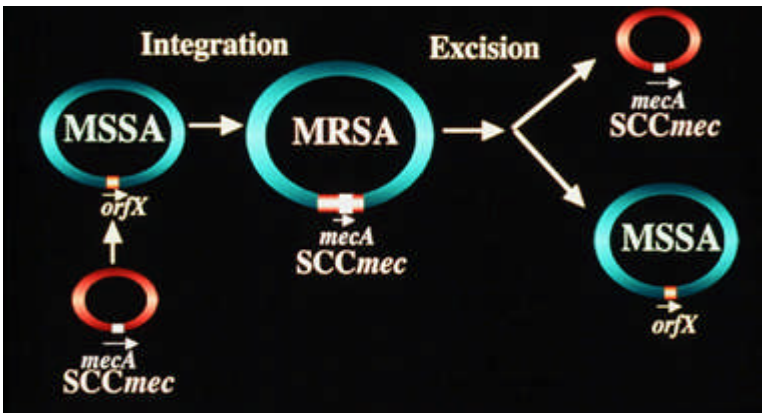


Figure 05 : Schéma explicatif du mécanisme d'excision et d'intégration de SCCmec

La particularité de la résistance à la méticilline chez le staphylocoque est liée à son expression hétérogène, une seule fraction de la population (en moyenne une bactérie sur 10^4à 10^7) est capable d'exprimer la résistance. Dans le cas d'un niveau d'expression élevée de la résistance à la méticilline, on parlera de résistance homogène (Scanvic-Hameg et *al*., 2002).

Depuis quelques années, l'expression hétérogène est devenue majoritaire et représente 60 à 90% des souches de SARM. Parallèlement à la résistance à la méticilline, les SARM secrètent pratiquement toujours une pénicillinase et associent très souvent une résistance aux aminosides, aux fluoroquinolones et aux macrolides. Cette multirésistance réduit significativement les possibilités thérapeutiques (Scanvic-Hameg et *al*., 2002).

III. 5.2. Traitement des SARM

L'antibiotique appartenant à la famille des glycopeptides et inhibant la synthèse du peptidoglycane des bactéries à Gram positif, la vancomycine reste en dépit de son ancienneté, le traitement de première intention des infections sévères à *Staphylococcus aureus* et à staphylocoque à coagulase négative résistant à la méthicilline d'origine communautaire ou nosocomiale (Mariani-Kurkdjian et *al*., 2008).

Partie expérimentale

I. MATERIEL ET METHODES

La partie expérimentale a concerné 350 prélèvements est réalisée en deux parties. La première partie s'est déroulée dans un laboratoire privé de Biologie Médicale (BIO BLIDA) où ont été fait l'isolement, l'identification et l'antibiogramme standard des souches de Staphylocoques. La seconde partie s'est déroulée dans un établissement hospitalier Frantz Fanon à Blida où des tests complémentaires de l'antibiogramme ont été complétés durant une période allant du 15 Février au 15 Mai 2013.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel non biologique

Il est représenté par les appareillages, les verreries, les réactifs, les milieux de culture et les disques d'antibiotique utilisés (voir annexe 04).

I.1.2. Matériel biologique

❖ **Prélèvement**

Les produits biologiques sur lesquels nous avons effectué cette étude sont : le pus, le sperme et les urines provenant de malades hospitalisés et non hospitalisés. Le tableau suivant illustre la répartition de ces prélèvements en fonction de l'origine des patients concernés dans cette étude:

Tableau II : Répartition des prélèvements en fonction de l'origine des patients.

Nature et origine du prélèvement	Malades hospitalisés	Malades externes	
Pus	24	06	30
Urines	24	267	291
Sperme	05	24	29
Total	53	297	350

❖ **Souches de référence**

A fin de valider les différents tests effectués, nous avons utilisé deux souches de référence provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie qui sont les suivantes :

Souches	Type de résistance	Référence
S.aureus	Sensible à l'oxacilline	ATCC 29923
S.aureus	Résistante à l'oxacilline	ATCC 43300

I.2. Méthodes

I.2.1. Etude cytobactériologique des urines

Cette étude permet de diagnostiquer une infection urinaire.

Prélèvement

- Lavage hygiénique des mains et toilette soigneuse au savon ou antiseptique doux de la région vulvaire chez la femme et du méat chez l'homme suivi d'un rinçage.
- Éliminer le premier jet d'urine et recueillir le reste dans un récipient stérile.
- Fermer hermétiquement le récipient et le porter immédiatement au laboratoire accompagné de sa prescription.
- Le prélèvement doit être traités par le laboratoire dans les deux heures suivant leur recueil ou conservé au réfrigérateur à + 4°C avant qu'il ne soit envoyé au laboratoire et traité dans les 18 heures.

Examen macroscopique

Aspect (limpide ou trouble) et couleur des urines.

Test de screening par utilisation de bandelette réactive chimique

La bandelette urinaire est une méthode d'analyse biologique instantanée des urines qui sont mises en contact avec des réactifs spécifiques.

- Détection de la présence de leucocytes.
- Détection de nitrites (présence des entérobactéries)
- Bonne valeur prédictive négative (98%) si polynucléaires- et nitrites- .

Examen microscopique

L'examen microscopique permet de décrire la morphologie, la mobilité des bactéries vivantes ainsi que les différentes numérations (polynucléaires, hématies, bactéries, cristaux et d'autres cellules…).

➢ **Etat frais**

✓ **Principe :** il nous oriente sur la morphologie, la mobilité et le mode de regroupement. Il permet d'évaluer la quantité des bactéries et la présence de leucocytes, de globules rouges et de levures.

✓ **Technique :** à l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose sur lame propre et stérile une goutte d'urine et on la recouvre par une lamelle, puis on observe au microscope optique à l'objectif (Gx40).

➢ **Numération cellulaire**

- ✓ **Principe :** détermination du nombre de cellules contenues dans un volume précis du milieu liquide
- ✓ **Technique :**
  - Prendre une lame à numération (KOVA) (figure 06).
  - Remplir une pipette Pasteur avec quelques millimètres d'urines après avoir casser et flamber son extrémité.
  - Remplir la chambre de comptage d'une lame à numération (KOVA).
  - Observer au microscope optique à l'objectif (Gx40).
  - Comptage des leucocytes (leucocyturie), des hématies (hématurie) et noter la présence des bactéries (bactériurie).

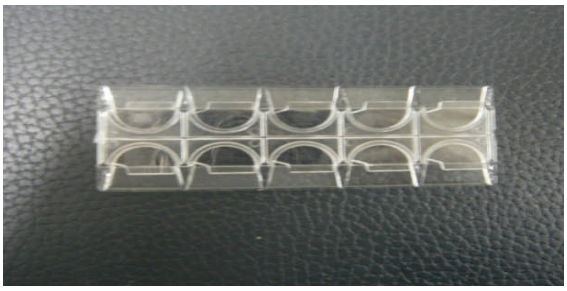


Figure 06 : Lame à numération (KOVA)

- ➢ **Interprétation de l'examen cytobactériologique des urines**

L'interprétation de l'examen cytobactériologique des urines (ECBU) est basée sur le comptage des leucocytes et le dénombrement des bactéries (Tableau III).

Tableau III : Interprétation de l'ECBU

Leucocytes/ml (leucocyturie)	UFC/ml (bacteriurie)	Interprétation
$<10^4$	$\leq 10^3$	Absence d'infection urinaire.
$>10^4$	$>10^5$	Présence d'une infection urinaire.
$<10^4$	Entre 10^3 et 10^5	Début d'une infection ou surtout un prélèvement contaminé.
$>10^4$	$<10^3$	Leucocyturie sans bactériurie.

(Fauchère, 1997)

- **Etude bactériologique**

Elle permet l'identification bactérienne par la mise en culture et l'étude des caractères biochimiques des bactéries.

La mise en culture est l'étape la plus importante dans le diagnostic bactériologique, elle est effectuée par ensemencement selon la méthode des quadrants sur des milieux gélosés et secs.

- Dans cette étude, nous avons utilisé le milieu chromogène (CHROMagar Orientation). C'est un milieu de culture qui permet de mettre en évidence une enzyme spécifique d'une espèce bactérienne (ou fongique) ou d'un groupe d'espèces. Ce dernier utilise des substrats spécifiques de cette enzyme qui après dégradation forment des produits colorés.

- Incuber les boites de pétri dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Identifier le germe selon la coloration obtenue des colonies (voir annexe 02).

I.2.2. Etude cytobactériologique du pus

Prélèvement

- Nettoyer la surface à l'alcool.
- Le prélèvement est effectué soit avec une seringue : on introduit la seringue dans le foyer infectieux et on aspire le pus, soit à l'aide d'un écouvillon : on frotte l'écouvillon dans la lésion. On utilise deux écouvillons : l'un pour l'examen microscopique (coloration de Gram) et l'autre pour la culture.

Examen direct après coloration de Gram

Cet examen permet d'apprécier l'importance des polynucléaires, l'aspect monomicrobien ou polymicrobien de la suppuration.

Mise en culture

- Les milieux utilisés sont :

➢ Milieu BCP : milieu non sélectif, permet la recherche de l'utilisation du lactose par des bactéries non exigeantes.

✓ Si le milieu reste violet (pas de production d'acide), le germe ne dégrade pas le lactose (Lactose -).
✓ Si le milieu vire du violet au jaune (production d'acide), le germe dégrade le lactose (Lactose+).

➢ Milieu Chapman : milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol (*Staphylococcus* dont le *S.aureus*), permet la croissance de la plupart des genres à Gram positifs en permettant au milieu de virer du rouge au jaune. Les SCN apparaissent en blanc (ne dégradent pas le mannitol).

➢ Milieu gélose au sang frais : milieu enrichi pour l'isolement sélectif de bactéries à Gram positif avec la mise en évidence de divers types d'hémolyse.

- Incuber les milieux dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La boite de gélose au sang est incuber en anaérobiose et les deux autres géloses sont incubées à une atmosphère normale.

S'il y a absence de culture, on prolonge l'incubation jusqu'à 48 heures.

I.2.3. Etude cytobactériologique du sperme

Les infections génitales hautes peuvent se développer à partir d'une infection génitale basse (urétrite) mais également elles peuvent être d'origine hématogène (Avril, 1998). L'étude du sperme est indiquée dans toute les infections génitales hautes, elle complète les examens cytobactériologiques des urines, des secrétions prostatiques et des prélèvements urétraux (Avril, 1998).

Selon le même auteur, l'examen cytobactériologique du sperme a pour but:

- Le diagnostic d'une infection génitale haute (prostatite, épididymite), en différenciant les germes pathogènes d'une éventuelle contamination par la flore commensale du gland.
- Le contrôle de la qualité du sperme dans le cadre d'une fécondation *in vitro*.

Prélèvement

- Le prélèvement est réalisé après une abstinence de trois jours, mais il peut être réalisé sans période d'abstinence après une miction suivie d'une désinfection soignée du gland à l'aide d'un antiseptique puis rinçage.
- Le recueil est effectué dans un flacon stérile.
- Le transport au laboratoire doit être rapide.

Examen direct

L'examen cytologique à l'état frais sera orienté sur la recherche de levures ou de parasites.

La coloration de Gram permettra :

- D'observer *Nesseria gonorrhoeae*, des levures (*Candida albicans*), des cocci Gram positif ou des bacilles à Gram négatif.
- De noter la présence ou l'absence des polynucléaires.

Mise en culture

Les prélèvements seront ensemencés sur :

- Gélose au sang frais : pour la recherche de diverses bactéries à Gram positif.
- Chapman : pour la recherche des Staphylocoques.
- Milieu BCP : pour la recherche de divers bacilles à Gram négatif.

Incuber dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

I.2.4. Isolement des souches de Staphylocoques

Pour les urines, la première incubation nous permet d'avoir des colonies pures, car ce type de prélèvement est selon Denis et Elias (2004) dans la quasi-totalité monomicrobien. En cas de culture polymicrobienne, il s'agit d'un prélèvement contaminé.

Pour les prélevements de pus et de sperme, après la première incubation nous obtenons des boites pouvant contenir un ou plusieurs types de colonies, ce qui nous oblige à faire des réisolements sur d'autres boites et réincuber pour obtenir des cultures pures.

I.2.5. Identification des souches de Staphylocoques

Après l'obtention d'une culture pure, on examine l'aspect des colonies selon les critères macroscopiques suivantes : la forme, la taille, la couleur, le bord, l'opacité, l'élévation et la surface, puis on procède aux tests suivants :

Coloration de Gram

✓ **But :** Permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne par coloration de cytoplasme cellulaire. De ce fait, elle permet de classer les bactéries en deux grands groupes : Bactéries à Gram négatif et Bactéries à Gram positif.

Elle nous permet aussi de voir la morphologie des cellules bactériennes, leurs regroupements ainsi que la confirmation de la pureté des colonies.

✓ **Principe :** La coloration de Gram s'effectue en trois étapes:

- Dans un premier temps, les bactéries sont colorées en violet par un colorant basique (violet de gentiane) puis par une solution de lugol.
- Dans un deuxième temps, qualifié de temps de différenciation, les bactéries sont soumises à l'action de l'alcool. Les bactéries se répartissent en deux catégories : celles qui conservent la coloration violette et qui sont qualifiées de bactéries à Gram positif et celles qui sont décolorées et qui sont appelées bactéries à Gram négatif.
- Dans un troisième temps, afin de mieux visualiser les bactéries décolorées, on procède à un traitement par la fuchsine. Les bactéries à Gram positif apparaissent alors violettes et les bactéries à Gram négatif se recolorent en rose.

✓ **Technique :** On réalise un frottis à partir d'une gélose selon les étapes suivantes :

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- Trouver une colonie bien isolée sur la gélose.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever un fragment de colonie à partir de la culture et la déposer sur la goutte.
- L'étaler soigneusement en une couche mince.
- Laisser sécher sur la plaque chauffante.

Après la réalisation du frottis, on réalise une coloration selon les étapes suivantes :

- Recouvrir la lame avec le violet de gentiane et laisser agir une minute.
- Rincer à l'eau.
- Recouvrir la lame avec le lugol pendant une minute.
- Décolorer à l'alcool pendant 20 secondes.
- Rincer à l'eau.
- Recolorer le frottis avec la fushine et laisser agir pendant une minute.
- Rincer à l'eau et laisser sécher.
- Mettre une goutte d'huile à immersion sur le frottis.
- Observer au microscope optique à l'objectif (Gx100).

✓ **Lecture :** Les bactéries colorées en violet ont gardé leur coloration primaire grâce à leur paroi épaisse et pauvre en lipide : Ce sont des bactéries Gram positifs.

Les bactéries colorées en rose ont perdu leur première coloration à cause de leur paroi riche en lipide et qui laisse diffuser l'alcool, celui-ci décolore le contenu intracellulaire. Ce sont des bactéries Gram négatifs.

Test de catalase

Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques.

✓ **Principe :** La catalase est une enzyme très importante, elle catalyse le péroxyde d'hydrogène H_2O_2 (toxique pour les bactéries) en oxygène gazeux et en eau selon la réaction suivante :

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2O + O_2 \uparrow$$

La catalase empêche l'accumulation de l'eau oxygénée toxique apparaissant au cours de certaines réactions métaboliques (Soto et *al*., 2011).

✓ **Technique :**

- Déposer une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) sur une lame stérile.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une petite quantité de culture bactérienne puis la déposer sur la lame et mélanger (éviter de prélever à partir de la gélose au sang, car les globules rouge ont leur propre catalase qui peut fausser le résultat).

✓ **Lecture :** Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme, la bactérie est catalase positive. Par contre, s'il n'y a pas de dégagement de bulles gazeuses cela indique que le test est négatif donc la bactérie est catalase négative.

Recherche de la coagulase

✓ **Principe :** La coagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma humain par transformation de fibrinogènes en fibrines. Ce test est utilisé pour la différenciation entre *S. aureus* et les autres espèces de staphylocoques à coagulase négative.

✓ **Technique :**

- On ajoute dans un tube à hémolyse deux à trois colonies bien isolées de la souche à tester prélevées à l'aide d'une pipette à 0,5 ml du plasma humain.
- Deux autres tubes sont préparés, l'un contient du plasma seulement (témoin négatif) et l'autre du plasma et une souche *S. aureus* de référence (témoin positif).
- Incuber à 37°C pendant 18 heures.

✓ **Lecture :** Si le plasma coagule (formation d'un caillot) : *S. aureus*. Par contre, si le plasma n'est pas coagulé : espèce autre que *S. aureus*.

Pour les tubes témoin : le tube contenant la souche de référence doit être positif, et l'autre négatif, si non le test est à refaire.

I.2.6. Etude de la sensibilité des staphylocoques aux antibiotiques

I.2.6.1. Antibiogramme

✓ **Principe :** Il est réalisé selon la technique de diffusion en milieu gélose, ceci permet de classer les bactéries en trois catégories : sensible, intermédiaire et résistante à l'antibiotique (Rahal, 2011).

L'antibiogramme standard se fait sur gélose Muller-Hinton simple, coulée en boite de pétri. Les géloses sont séchées avant l'emploi.

✓ **Technique**

- Préparation d'inoculum :

  - A partir d'une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette Pasteur stérile quelques colonies bien isolées.
  - Décharger la pipette dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
  - Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac Farland (Voir annexe 03).
  - L'inoculum peut être ajusté en ajoutant soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

- Ensemencement :

  - Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
  - L'essorer en le pressant fermement avec un mouvement de rotation contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
  - Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
  - Répéter l'opération deux fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- Application des disques d'antibiotiques

  - Les disques sont appliqués à l'aide d'une paire de pince stérile ; Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique par boite de pétri (Figure 07). La liste des antibiotiques testés dans de cas des staphylocoques est en annexe 04.
  - Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince stérile et ne pas déplacer les disques après application.
  - L'incubation se fait pendant 18 à 24 heures à 35°C.

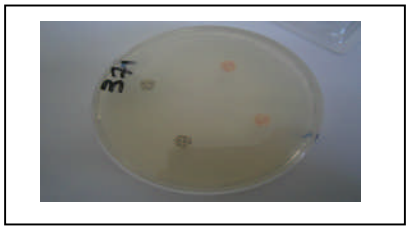


Figure 07: Disposition des disques d'antibiotiques

- ✓ **Lecture :** Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse à l'extérieur de la boite fermée.

Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tableaux d'interprétation fournis par la Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (Voir annexe 05).

I.2.6.2. Recherche de la résistance à l'oxacilline

La résistance des *S. aureus* à l'oxacilline permet de répartir les souches de *S. aureus* en deux catégories :

- Les souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline : **MSSA** (méti-S).
- Les souches se *S. aureus* résistantes à la méticilline : **MRSA** (méti-R).

Test de diffusion de disque de céfoxitine

✓ **Technique :** La résistance des staphylocoques aux Isoxazolyl pénicillines (oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30µg) dans les conditions standard de l'antibiogramme.

✓ **Lecture :** La lecture d'un diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse (Figure 08):

- Si le diamètre de la céfoxitine est ≥27mm la souche est dite sensible à l'oxacilline : MSSA.
- Si le diamètre de la céfoxitine est <25 mm la souche est dite résistante à l'oxacilline : MRSA et dans ce cas là, faire le test de confirmation par la technique du screening à l'oxacilline (test MRSA).

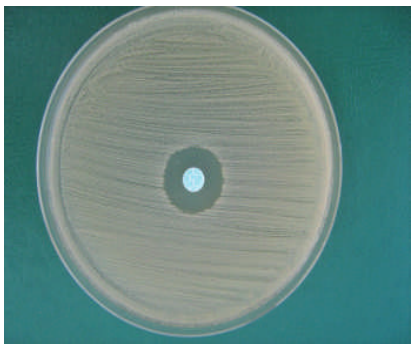


Figure 08 : Résultat de diffusion du disque de céfoxitine.

Screening test à l'Oxacilline pour *S. aureus* : (Rahal, 2011)

✓ **Principe :** Ce test concerne uniquement *Staphylococcus aureus,* l'oxacilline doit être testée de façon particulière pour majorer l'expression de la résistance ; ceci devant tout problème d'interprétation du diamètre d'inhibition de la céfoxitine.

✓ **Technique :** Le milieu utilisé est la gélose Mueller Hinton additionnée de 4% de Na Cl et de 6µg/ml d'oxacilline. La préparation de la solution d'oxacilline se fait de la manière suivante :

- Diluer 6mg d'oxacillline (poudre injectable d'un flacon de 1g) dans 10ml d'eau distillée stérile puis faire une dilution au dixième.
- Mettre 2ml de cette solution dans une boite de 90mm de diamètre, ajouter 18ml de gélose Mueller Hinton additionnée de 4% de Na Cl. Mélanger en faisant des mouvements rotatoires.
- Laisser solidifier puis sécher.

- Inoculum : il est préparé de la même façon que celui de l'antibiogramme standard.
- Ensemencement et incubation : se fait par spot, en appliquant verticalement sur la gélose l'extrémité d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne, puis on incube pendant 24heures à 35°C.

✓ **Lecture :** La culture plus d'une colonie de la souche testée suffit pour indiquer une résistance à l'oxacilline, impliquant une résistance à toutes les β-lactamines (Figure 09).

Figure 09 : Résultat du screening test.

Technique de l'E-test

✓ **Principe :** C'est une technique de détermination de la CMI validée pour les bactéries non exigeantes et pour un certain nombre de bactéries exigeantes.

✓ **Technique**

- L'E-test est réalisé dans un milieu Mueller Hinton.
- Préparation de l'inoculum : son opacité doit être équivalente à 0,5 MacF.
- Ensemencement des boites par écouvillonnage.
- Dépôt de la bandelette E-test par boite de pétri ; ceci ce fait de la manière suivante :

  - Prélever la bandelette à l'aide de pince préalablement flambé au bec bensen.
  - Déposer la bandelette délicatement sur la surface gélosée, on commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles de l'antibiotique testé puis en progressant jusqu'aux concentrations les plus élevées.

- Incuber la boite à 35°C pendant 24 heures.

✓ **Lecture :** La CMI de l'antibiotique testé est lue à l'œil nu et à boite ouverte ; elle correspond à la graduation, située à la jonction entre l'ellipse (dessinée par l'inhibition de la culture bactérienne) et la bandelette E-test (Figure 10), le numéro correspondant à la CMI est indiqué dans le tableau VII (voir annexe 05). Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

Figure 10: Résultat de l'E-test.

Résultats et discussion

II. RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Résultats

Parmi les 350 prélèvements recueillis, nous avons isolé 238 cas positifs dont 63 souches de staphylocoques. Le reste était négatif (n=112).

Tableau IV : Répartition de staphylocoques en fonction de prélèvements.

Staphylocoques	Urine	Pus	Sperme	
S.aureus	10	15	05	30
SCN	17	06	10	33
Total	27	21	15	63

II.1.1. Germes isolés dans divers prélèvements

D'après la figure ci-dessous, nous constatons que le germe principal des infections urinaire est *Escherichia coli* 44,00% (n=80). Les staphylocoques sont représentés par un taux de 14,84% (n=27). Les infections génitales chez l'homme sont dues essentiellement aux staphylocoques 53,57% (n=15) et aux streptocoques 35,72% (n=10).

75% des germes impliqués dans les infections pyogènes sont principalement dues aux staphylocoques (n=21).

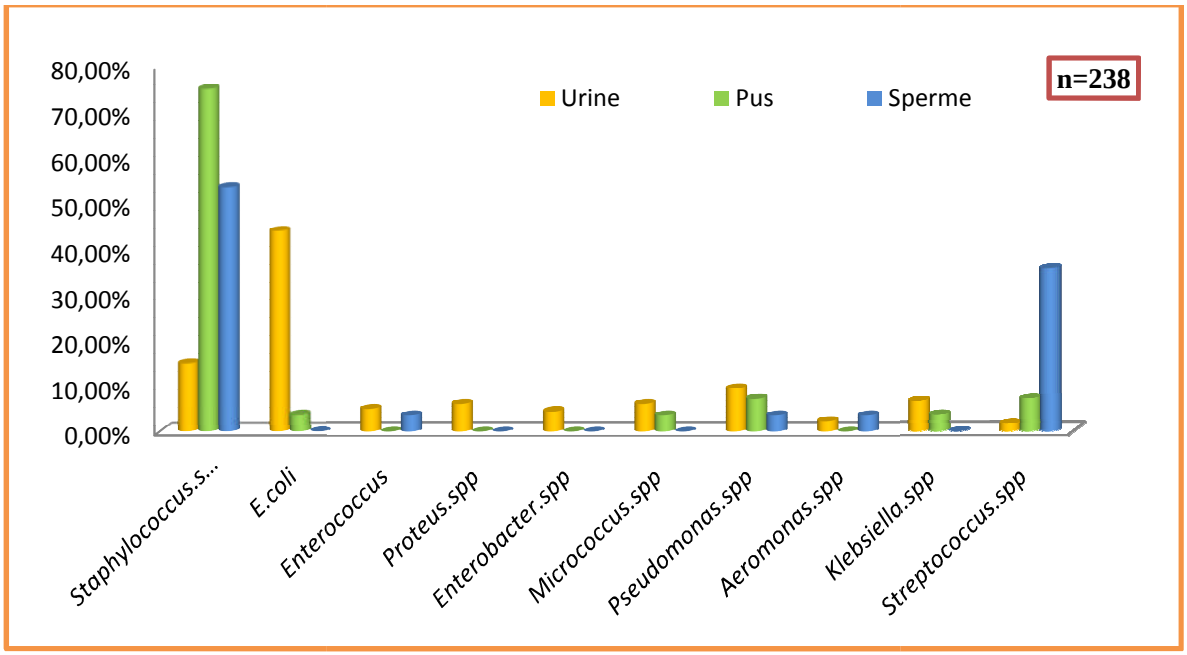
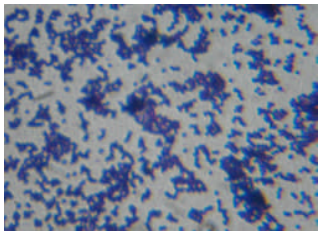
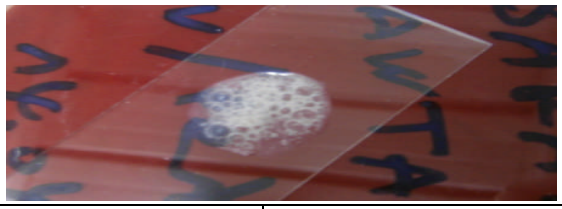
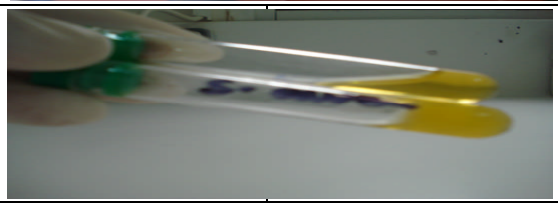


Figure 11 : Pourcentage des germes isolés dans différents prélèvements.

II.1.2. Résultats de l'identification des staphylocoques

Les résultats de l'identification des staphylocoques sont représentés par les photos illustrées par le tableau ci-dessous.

Tableau V: Résultats de l'identification des isolats.

Résultats obtenus	Photos	
	S. aureus	**SCN**
Coloration de Gram : Cocci isolés en amas colorés en violet (bactérie Gram positif).		
Isolement sur milieu Chapman : Colonies de 1 à 2mm de diamètre, lisses, bombées, opaques. - Colonies jaune dorées pour *S.aureus* avec acidification du milieu, et blanches pour SCN.		
Catalase + : Apparition de bulles d'air.		
Coagulase + : Formation de caillot pour *S.aureus*. Pas de coagulation pour SCN.		

II.1.3. Etude des souches de staphylocoques isolées

Au cours de cette étude, nous avons isolé 238 bactéries dont 63 staphylocoques. Ces souches ont été isolées à partir des trois produits pathologiques différents : les urines, le pus et le sperme.

.

Les résultats des staphylocoques isolés ont montré une légère prédominance masculine, soit un taux de 55,56% (n=35) par rapport au sexe féminin 44,44% (n=28) (Figure 12).

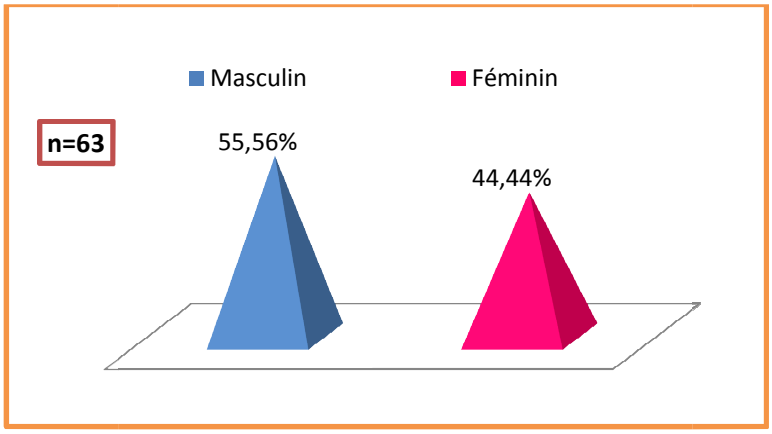


Figure 12 : Répartition de staphylocoques selon le sexe.

a. Fréquence des staphylocoques par rapport aux germes isolés

L'étude cytobactériologique a montré que les staphylocoques (*S. aureus et* SCN) sont parmi les germes les plus rencontré avec un taux de 26,47% (n=63), et se classent juste après *E. coli* qui présente 34,03% (n=81) de l'ensemble des espèces bactériennes isolées (Figure 13).

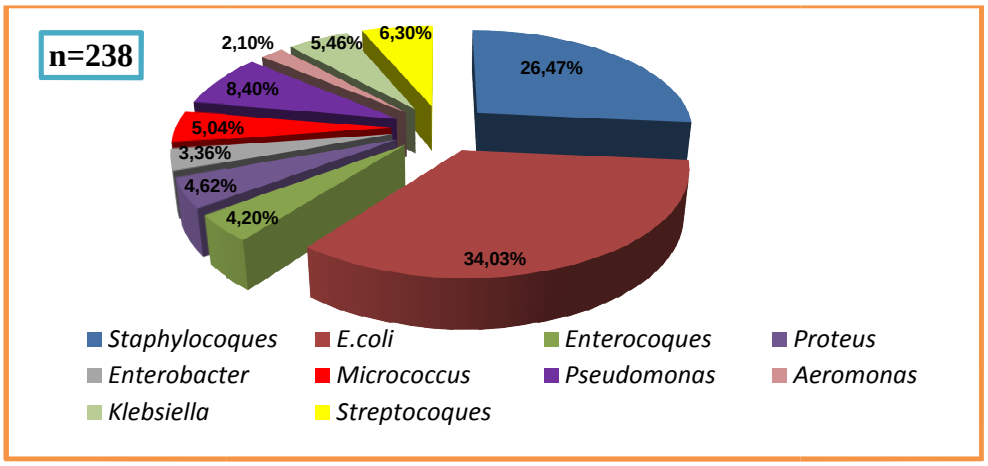


Figure 13: Fréquence des staphylocoques par rapport aux autres germes.

b. Répartition des staphylocoques selon les espèces

Les résultats de la répartition des staphylocoques selon les espèces ont montré que les souches isolées sont des staphylocoques à coagulase négative (ou SCN) dans 52,38% (n=33) des cas. 47,62% (n=30) des cas appartenaient à l'espèce *S. aureus* (Figure 14).

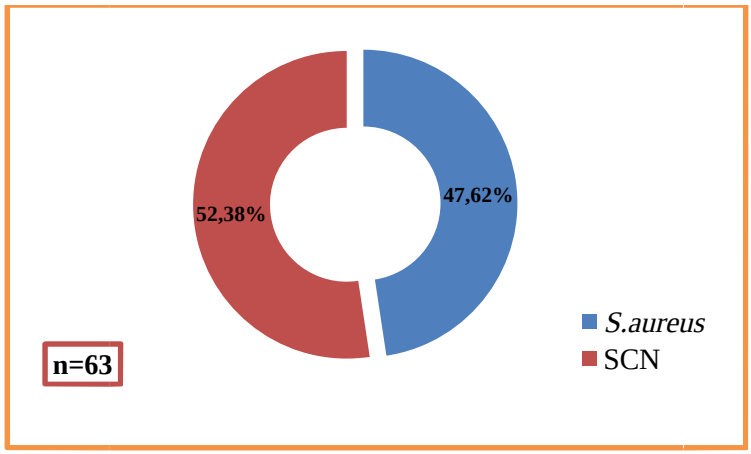


Figure 14: Répartition des staphylocoques selon les espèces.

c. Pourcentage des staphylocoques isolés dans différents prélèvements

La figure 15 fait ressortir que les *S. aureus* sont responsables de 53,57% (n=15) des infections pyogènes, de 17,86% (n=5) des infections génitales chez l'homme uniquement et de 5,50% (n=10) des infections urinaires.

Parallèlement, les SCN sont responsables de 35,71% (n=10) des infections génitales chez l'homme, de 21,43% (n=6) des infections pyogènes et de 9,34% (n=17) des infections urinaires.

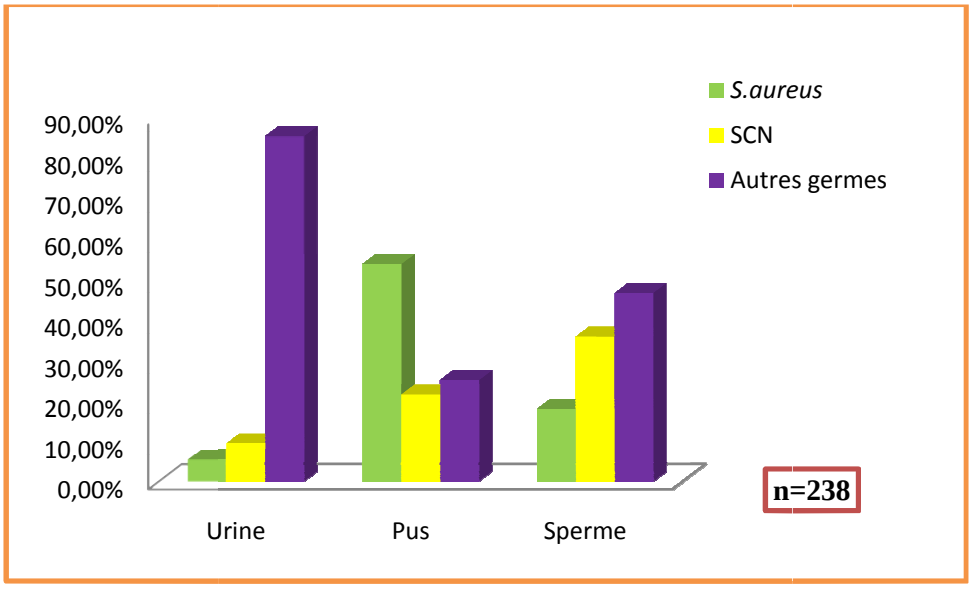


Figure 15: Pourcentage des souches *S.aureus* et SCN isolées dans différents prélèvements.

II.1.4. Prévalence des souches *S. aureus*

a. Répartition des souches de *S. aureus* selon les types de prélèvement

La répartition des souches *S. aureus* selon les produits pathologiques est illustrée par la figure 16.

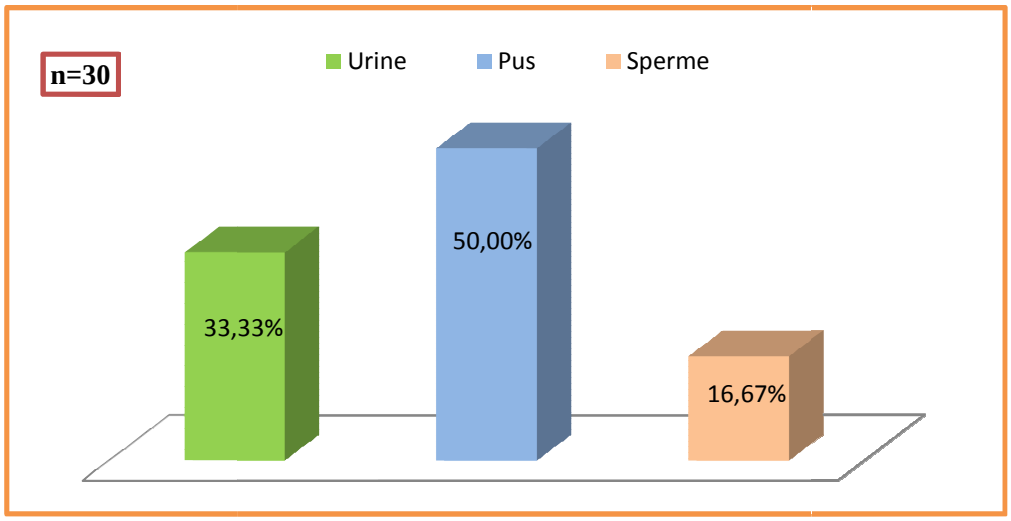


Figure 16: Répartition des souches de *S.aureus* selon les produits pathologiques.

On note que 50,00% (n=15) des souches de *S. aureus* ont été isolées à partir de pus, 33,33% (n=10) des souches à partir des urines et 16,67% (n=5) des souches à partir de sperme.

b. Prévalence des souches de *S. aureus* selon le sexe

La figure 17 fait ressortir que parmi les 30 souches se *S .aureus,* 20 sont isolées chez des hommes, soit un taux de 66,67% versus 10 chez les femmes (33,33%).

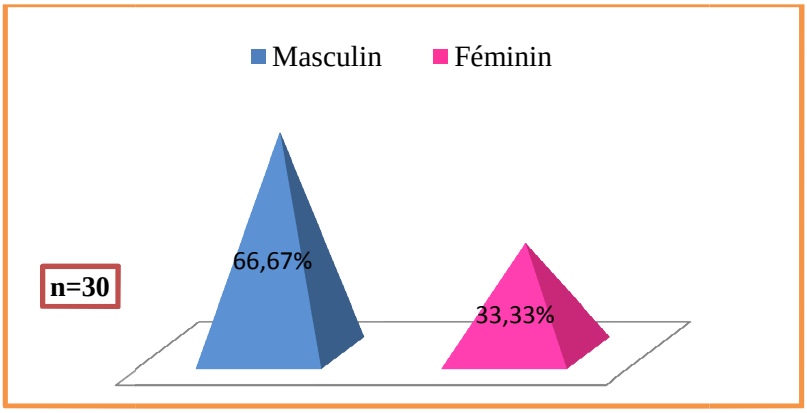


Figure 17: Répartition des souches de *S.aureus* selon le sexe.

II.1.5. Prévalence des souches des staphylocoques à coagulase négative (SCN)

a. Répartition des SCN selon les types de prélèvement

La figure 18 fait ressortir que 51,52% (n=17) des SCN sont isolés des urines, 30,30% (n=10) de sperme et un taux de 18,18% (n=6) est enregistré dans le cas des infections pyogènes.

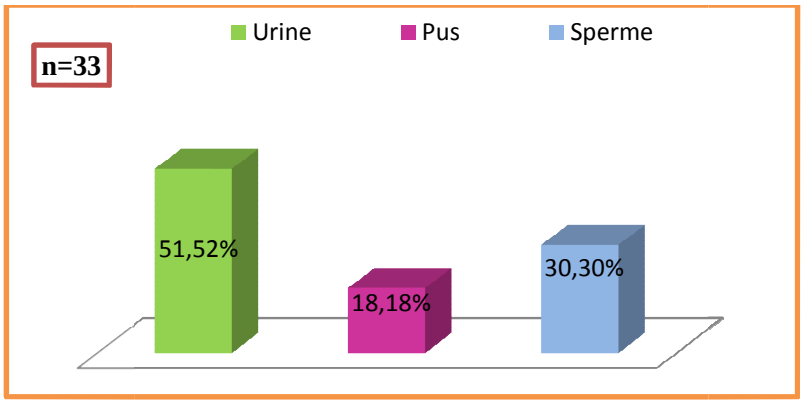


Figure 18 : Répartition des SCN selon les produits pathologiques.

b. Prévalence des SCN selon le sexe

La figure 19 illustre la répartition des SCN selon le sexe. Nous notons que 54,55% (n=18) des souches de SCN ont été isolées chez des patients de sexe féminin et 45,45% (n=15) chez des patients de sexe masculin.

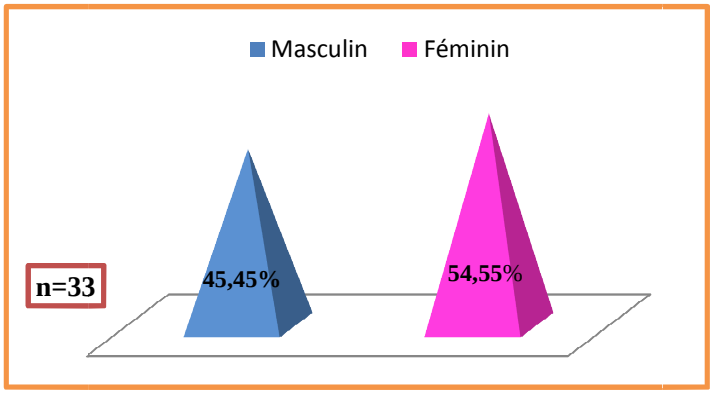


Figure 19 : Répartition des SCN selon le sexe.

II.1.6. Résistance à l'oxacilline et taux de MRSA

La détection de la résistance à l'oxacilline a permis de répartir les 30 souches de *S. aureus* isolées en deux catégories : les souches sensibles à l'oxacilline (MSSA) et les souches résistantes à l'oxacilline (MRSA) (Figure 20).

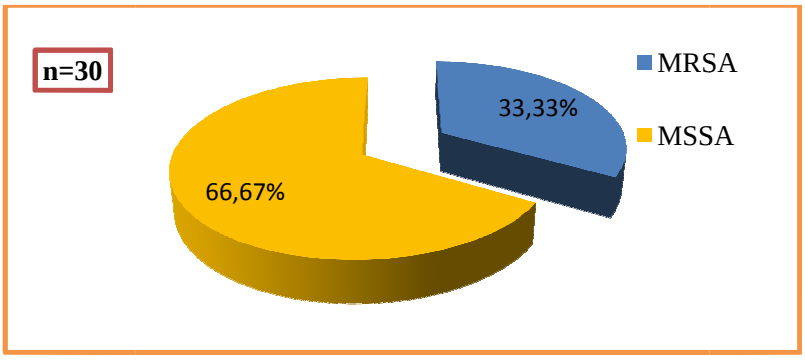


Figure 20 : Taux des souches MRSA et MSSA.

Parmi les 30 souches de *S. aureus* isolés, 10 souches étaient résistantes à l'oxacilline (MRSA) (Figure 21), ce qui représente 33,33% des souches, le reste des souches (n=20) était sensible à l'oxacilline (MSSA) (Figure 22) et représente un pourcentage de 66,67%.

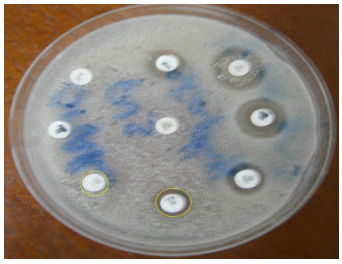


Figure 21 : Antibiogramme des souches MRSA.

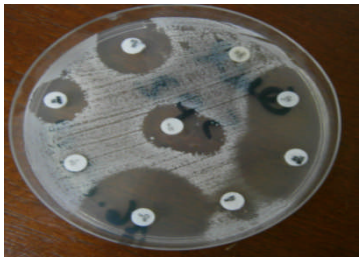


Figure 22 : Antibiogramme des souches MSSA.

a. Répartition des MRSA selon le type de prélèvements

La figure 23 fait ressortir que 50% (n=5) des staphylocoques méticillino-résistants sont isolés des pus, 40% (n=4) des urines et 10% (n=1) de sperme.

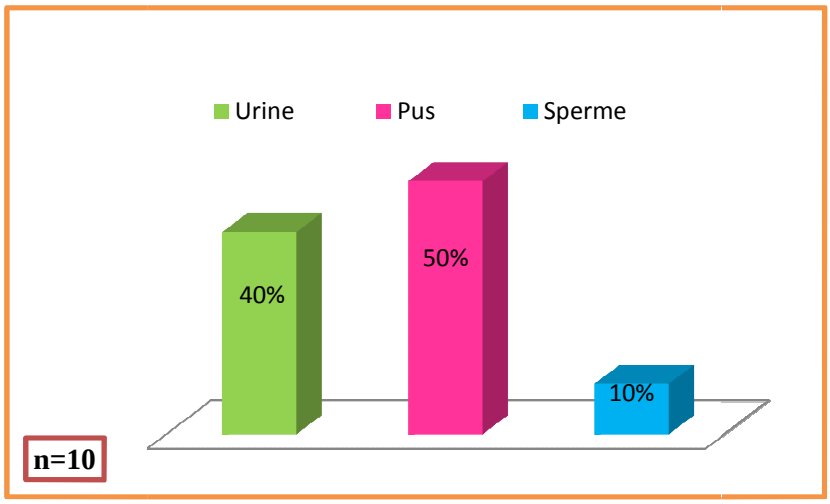


Figure 23 : Répartition des MRSA selon les produits pathologiques.

b. Prévalence des MRSA selon le sexe

Parmi les 10 souches de staphylocoques résistants à la méticilline, 06 sont isolées chez les hommes, soit un taux de 60% versus 04 chez les femmes (40%) (Figure 24).

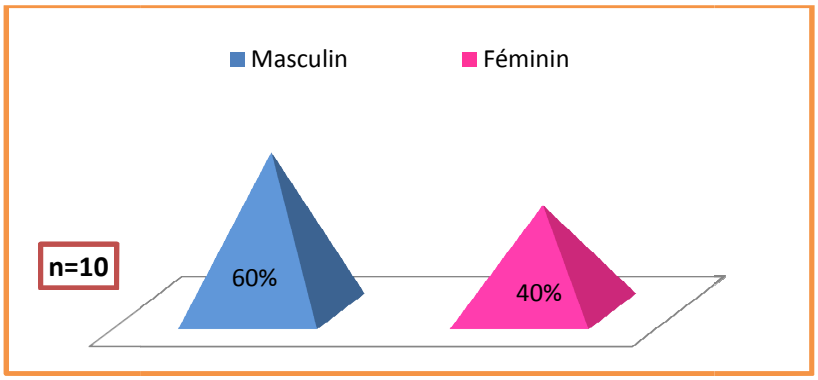


Figure 24 : Répartition des MRSA selon le sexe.

II.1.7. Etude de la résistance des staphylocoques aux antibiotiques

a. Etude de la résistance des MSSA aux antibiotiques

Les résultats des antibiogrammes effectués sont rapportés par la figure 25.

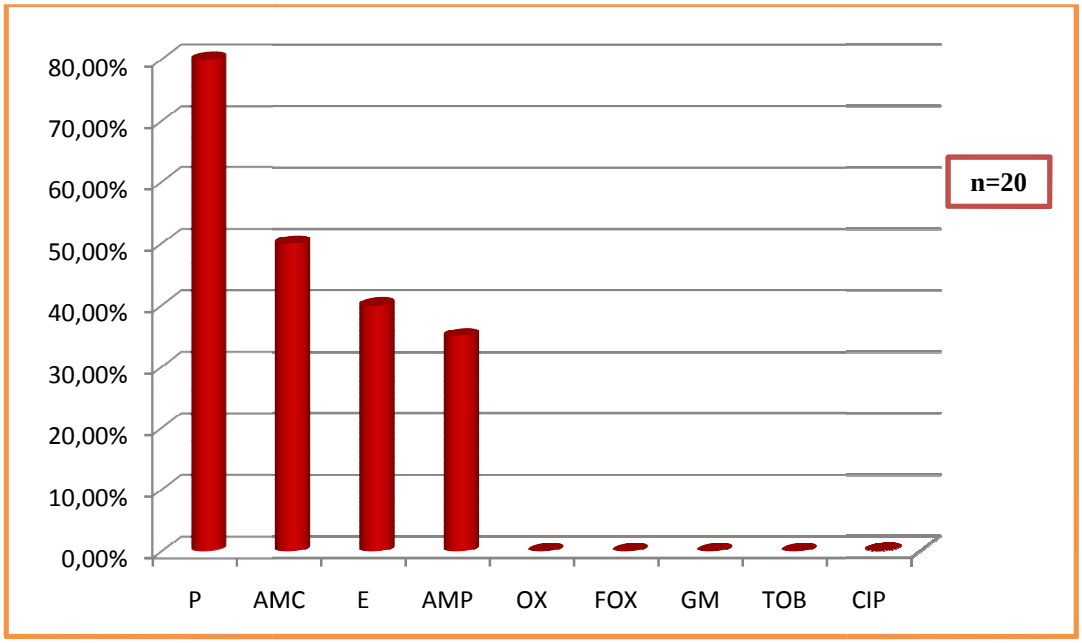


Figure 25 : Pourcentage de résistance des MSSA aux antibiotiques.

D'après cette figure, on remarque que le pourcentage le plus élevé est celui de la résistance à la pénicilline avec 80,00% (n=16).

On note cependant une résistance moins élevée pour l'amoxicilline+acide clavulanique 50% (n=10), l'érythromycine 40,00% (n=8) et pour l'ampicilline 35,00% (n=7).

Aucune résistance n'a été notée vis-à-vis de plusieurs antibiotiques comme l'oxacilline, la céfoxitine, la gentamycine, la tobramycine et le ciprofloxacine.

b. Etude de la résistance des MRSA aux antibiotiques

Les pourcentages de résistance des staphylocoques méticillino-résistants vis-à-vis de chaque antibiotique sont présentés dans la figure 26.

Les résultats ont montré :

- Une résistance de la totalité des souches (100%) vis-à-vis la pénicilline G, l'oxacilline, le céfoxitine, l'ampicilline et l'amoxicilline+acide clavulanique.
- Une résistance élèvée à la gentamycine 70,00% (n=7).
- Pour le tobramycine, la résistance est moyenne avec un taux de 60,00% (n=6), elle est moins élevée pour l'érythromycine 30,00% (n=3).
- Le taux de résistance est faible pour le ciprofloxacine 10,00% (n=1).

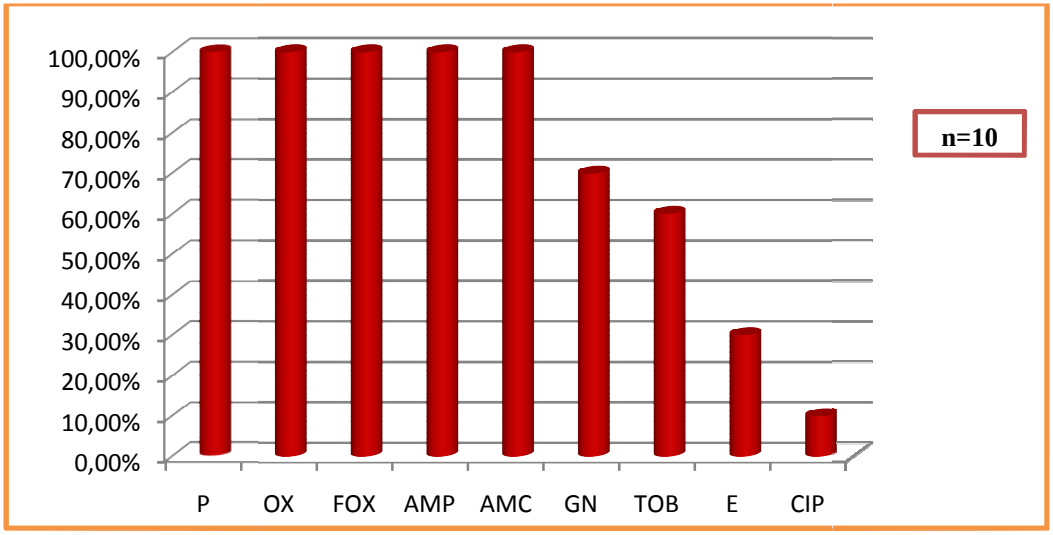


Figure 26 : Pourcentage de résistance des MRSA aux antibiotiques.

c. Etude de la résistance des SCN aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme des souches SCN sont illustrés par la figure suivante :

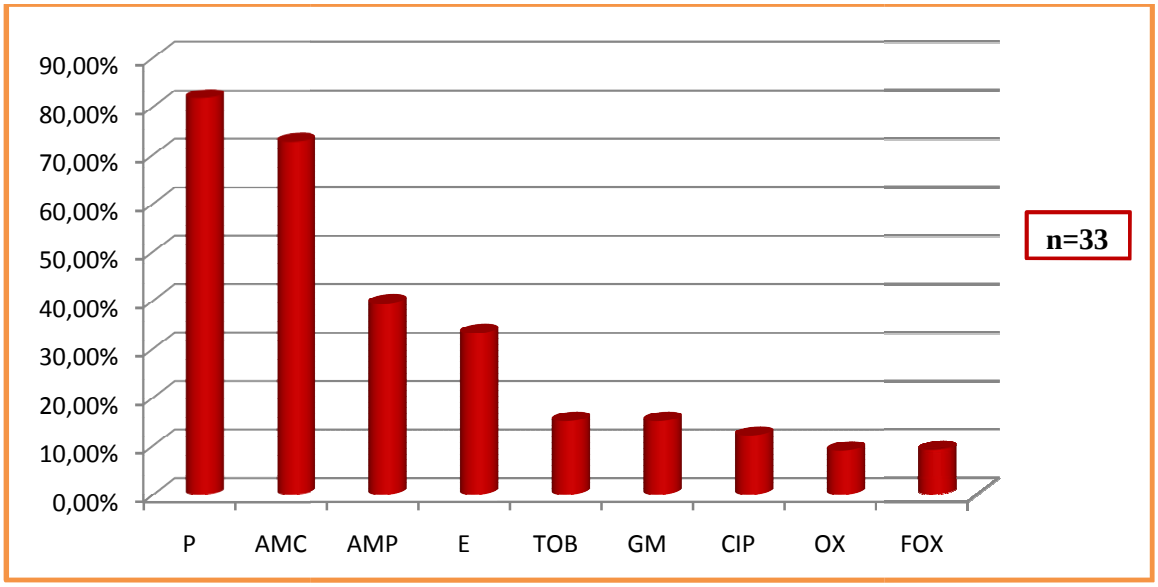


Figure 27 : Pourcentage de résistance des SCN aux antibiotiques.

- On remarque que les staphylocoques à coagulase négative ont une résistance élevée vis-à-vis de la pénicilline 81,81% (n=27) et de l'amoxicilline+acide clavulanique 72,73% (n=24).
- Une résistance moins élevée pour l'ampicilline 30,40% (n=13) ainsi que pour l'érythromycine 33,33% (n=11).
- La tobramycine et la gentamycine présentent 15,16% (n=5) et la ciprofloxacine présente 12,12% (n=4).
- Un pourcentage très faible est enregistré pour l'oxacilline et la céfoxitine 9,10% (n=3).

II.2. DISCUSSION

Sur les 238 prélèvements pathologiques positifs et en se basant sur l'aspect macroscopique et microscopique des colonies, nous avons isolé 63 (26,47%) souches du genre *Staphylococcus.*

Concernant les résultats sur la répartition des staphylocoques par rapport aux autres germes isolés, les staphylocoques sont parmi les germes les plus rencontrés avec un taux 26,47%. Ces résultats se rapprochent de ceux de Walter et *al* (1976) qui ont trouvé un taux de 30,26% de staphylocoques de l'ensemble des espèces bactériennes isolées.

Parmi les 63 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, 30 souches pures ont été identifiées comme appartenant à l'espèce *S. aureus* par la mise en évidence d'une coagulase libre, soit un taux de 47,62%. Ce résultat est comparable à celui obtenu lors d'une étude par Oyetunji et *al*., (2012) au Nigéria (49%) et par Leclerq et *al*., (2003) en France (52,3%).

Chez le sexe masculin, nous avons noté un taux plus élevé dans l'isolement des staphylocoques (55,56%) par rapport au sexe féminin (44,44%). Ce taux enregistré chez le sexe masculin est en relation avec le nombre de prélèvements provenant des patients de sexe masculin (infections génitales qui n'a concerné que la frange masculine), qui était plus élevé par rapport au nombre de prélèvements provenant de sexe féminin. Par contre, l'étude réalisé au Nigéria par Oyetunji et *al*., en 2012 ont isolé 48% de staphylocoques chez le sexe masculin et 50% chez le sexe féminin.

Durant cette étude 50% des souches de *S. aureus* ont été isolées à partir des prélèvements de pus dont l'espèce *S. aureus* est la plus incriminée s'agissant des infections cutanéo-muqueuses. Cette observation a été rapportée par Le Minor et Véron en 1989. Selon Ibra (2000), ce sont des germes pyogènes par excellence. Cette fréquence est comparable à celle obtenue aux Etats-Unis où les prélèvements de pus sont positifs dans 51% des cas (Pillar et *al*., 2008).

Les infections urinaires à staphylocoques représentent 33,33%. Selon François et *al.*, (1995), les staphylocoques sont les plus rencontrés dans les infections urinaires après *E. coli.* Contrairement aux nombreuses études citons celle de Le Noir et Gautier (2009), *S. aureus* est rarement responsable d'infections urinaires. Cette fréquence obtenue durant cette étude pourrait s'expliquer par le fait que le laboratoire a reçu un nombre important de prélèvement d'urine par rapport aux autres types de prélèvements (n=291).

En ce qui concerne, les souches SASM, elles représentent un taux de 66,67% de l'ensemble des souches de *S. aureus* isolées au cours de notre étude. Ce taux est comparable à celui d'une étude menée en France (67%) (Bertrand et *al*., 2005), alors qu'il est de l'ordre de 47% aux USA (Pillar et *al*., 2008).

Parmi les 30 souches de *S. aureus* isolées, 10 souches (33,33%) étaient résistantes à la méthicilline (MRSA). Dans des études similaires rapportées par Aouati et *al*., (2010) à Constantine, le pourcentage des MRSA a été de 32,78%. Cependant nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par Bencherif et *al.*, (2012) dans une étude réalisée au CHU à Sétif où le taux des staphylocoques méthicillino-résistants était de 28,57%. Il est, cependant, moins important par rapport aux chiffres de l'ONERBA (35%) (Bertrand et *al*., 2005).

Selon Ahoyo et *al*., (2006), le taux de staphylocoques méthicillino-résistants au Bénin est de 36%. Une autre étude menée en Tunisie par Hammami et *al*., (2012) a montré que la fréquence des staphylocoques méthicillino-résistants reste stable (17%). Toutefois, le taux retrouvé dans cette étude ne dépasse pas le taux national rapporté par le réseau algérien de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques en 2011 qui était de 40,07%.

Les résultats sur la répartition des MRSA selon le sexe ont montré une nette prédominance chez le sexe masculin (60%). Ces résultats rejoignent ceux rapportés par Elazhari (2009) où il révèle dans son étude, que 54% des cas proviennent de personnes de sexe masculin. Cependant, cette prédominance ne peut pas argumenté car le sexe n'est pas un facteur de risque d'infection à staphylocoques méthicillino-résistants (Lepelletier, 2006).

Concernant la résistance des souches de staphylocoques :

La résistance des souches MSSA et MRSA est très différente. Ceci est expliqué par le fait que les MRSA sont des bactéries multi-résistantes qui possèdent une résistance à toutes les béta-lactamines associée à la résistance à d'autres familles d'antibiotiques, contrairement aux MSSA. Pour cette raison nous avons opté pour présenter les résultats sur la résistance de chaque groupe séparément.

Pour les MSSA :

L'étude de la résistance des souches MSSA aux antibiotiques a révélé une résistance importante aux bétalactamines surtout à la pénicilline G avec un pourcentage de 80%. Cette résistance est souvent due à l'utilisation abusive de ces antibiotiques et à la production de bétalactamase (pénicillinase d'origine plasmidique). Ce taux a été rapporté par Elazhari et *al*., (2010), il est similaire à celui retrouvé par Parwaiz et *al*., (2007) au Pakistan (81%).

Une autre étude menée au Maroc par Elhamzaoui et *al*., (2009) ont noté que le taux de résistance à la pénicilline G est de 86,80 %. Parallèlement, ces données sont en cohérence avec la tendance générale observée en France depuis quelques années (Medeiros et Crellin, 2000). Actuellement, 80 à 95% des *S. aureus* isolés produisent une pénicillinase, qui inactive la pénicilline G et l'ampicilline (Caby et *al*., 2010 ; Daurel et Leclercq, 2008). 7 souches MSSA (35%) étaient résistantes à l'ampicilline, cette résistance est inférieur à celle obtenue au Nigéria (80,6%) par Oyetunji et *al*., (2012).

Vis-à-vis des macrolides, 8 souches étaient résistantes à l'érythromycine (40%), le taux obtenu est supérieur à celui retrouvé au Nigéria (25%) par Oyetunji et *al*., (2012). Cette résistance est due à la modification de la cible ribosomale (Jehl et *al*., 2003).

Vis-à-vis des aminosides, toutes les souches de MSSA étaient sensibles à la gentamycine et à la tobramycine. Parallelement, dans une étude réalisée à Nigéria par Oyetunji et *al*., (2012), la résistance des MSSA à la gentamycine était très faible (2,8%). Ces deux antibiotiques ont naturellement une action bactéricide sur les staphylocoques (Mainardi et Quincampoix, 2001). Les aminosides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous unité 30S du ribosome bactérien, ils exercent ainsi une activité bactéricide rapide (Daurel et Leclercq, 2008).

Vis-à-vis des quinolones, toutes les souches MSSA étaient sensibles à la ciprofloxacine. Cet antibiotique a une bonne activité sur les staphylocoques dorés et leur indication dans le traitement des infections systémiques à staphylocoques dorés sensibles est conseillé (Bernard et Dellamonica, 1985).

Pour les SCN :

La sensibilité et la résistance des staphylocoques à coagulase négative aux antibiotiques sont souvent comparables sans être totalement superposables, à celles décrites chez *S. aureus*.

L'antibiogramme des souches SCN a révélé une résistance élevée vis a vis des bétalactamines, surtout lorsqu'il s'agissait de la pénicilline G (81,81%) qui repose sur l'inactivation enzymatique de l'antibiotique.

Trois souches de SCN étaient résistantes à l'oxacilline et à la céfoxitine. Cette résistante est moins fréquente, celle-ci se rencontre surtout en milieu hospitalier et pose des problèmes d'autant plus complexes qu'elle est souvent associée à d'autres marqueurs de résistance : production de pénicillinase, mais aussi résistance aux aminosides, aux macrolides et actuellement de plus en plus souvent aux quinolones (ciprofloxacine) comme chez *S. aureus* comme l'ont déjà souligné Pierre et *al*., (1990) dans ces travaux.

En général, les SCN sont naturellement sensibles aux béta-lactamines, mais peuvent acquérir vis-à-vis de ces antibiotiques des résistances analogues à celles décrites chez *S. aureus.* Ces résultats sont en concordance avec les travaux de Pierre et *al*., (1990).

Dans cette étude, nous avons noté que 15,16% des souches SCN (n=5) étaient résistantes aux aminosides (gentamycine et tobramycine). Cette résistance est liée à l'acquisition par les bactéries d'enzymes modificateurs des aminosides codés par des gènes portés par des plasmides ou des éléments transposables (Pierre et *al*., 1994). Selon les travaux de Garnier et *al*., (2002), une résistante élevée à la gentamycine avec un taux de 54% a déjà été signalée.

On remarque que les staphylocoques à coagulase négative sont plus résistants aux antibiotiques que *S. aureus*. Ces résultats obtenus dans cette étude concordent avec les travaux de Garnier et *al*., (2002).

Pour les MRSA :

L'analyse globale de la résistance des SARM aux antibiotiques confirme la multirésistance de ces germes qui sont connues par leur aptitude de résister à plusieurs autres familles d'antibiotiques (Leclercq, 2002).

Les MRSA résistent à l'oxacilline ainsi qu'à toutes les bétalactamines testés. Cette résistance est due à la présence de la PLP2a (modification des PLP) qui a une très faible affinité pour l'ensemble des bétalactamines.

Les 10 souches de staphylocoques méthicillino-résistants diagnostiquées dans cette étude, sont toutes résistantes à l'ensemble des molécules de la famille des béta-lactamines testés (Gross- Schulman *et al.*, 1998). Cette résistance est de 100% pour la pénicilline G, l'ampicilline, l'amoxicilline+acide clavulanique, l'oxacilline et la céfoxitine, puisque le profil MRSA implique une résistance croisée à toutes les béta-lactamines.

Le profil MRSA est souvent associé à la résistance aux antibiotiques de la famille des aminosides, nous avons enregistré le taux le plus élevé pour la gentamycine70%. Cette résistance est comparable au taux retrouvé à Abidjan (77,6%) par Akoua-koffi (2004) et plus élevée par rapport à d'autres études réalisées en Tunisie et en France (18 et 10% respectivement) (Bertrand et *al*., 2004 ; Mastouri et *al*., 2006), et à celui retrouvé à Constantine (37,5%) par Aouati et *al*., (2010).
Ce taux est plus élevé par rapport à celui au Nigéria (12,9%) (Oyetunji et *al*., 2012) . Suivi par celui de la tobramycine (60%), ce taux est plus élevé à celui retrouvé à Constantine (40%) par Aouati et *al*., (2010).

Pour la famille des macrolides, l'érythromycine a montré un taux de résistance de 30% et il est comparable à celui obtenu par Oyetunji et *al*., (2012) (35,5%). Ce taux est inférieur à celui observé dans une étude faite au niveau de laboratoire de microbiologie de CHU à Constantine (42,5%) par Aouati et *al*., (2010), à celui retrouvé dans une étude en Tunisie (49%) (Mastouri et *al*., 2006) et par rapport à celui retrouvé aux Etats-Unis (66%) par Pillar et *al*., (2008). Perwaiz et *al*., (2007) ont obtenu un pourcentage très élevé à l'erythromycine (95%) au Pakistan.

Vis-à-vis des fluroquinolones (ciprofloxacine), une seule souche seulement était résistante (10%), ce taux est comparable à celui retrouvé dans une étude réalisé en France par Viral et *al*., (2012) qui ont trouvé un taux de 10,34%. Le taux est très faible par rapport au taux retrouvé au laboratoire d'hygiène hospitalière de CHU en France par Rouzic et *al*., (2011), qui atteint jusqu'à 81,2% en 2007.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans cette étude, nous avons isolé au total 63 souches de staphylocoques dont 30 souches de *Staphylococcus aureus* et 33 souches de staphylocoque à coagulase négative à partir de 238 échantillons positifs de différents matrices biologiques (urine, pus et sperme) provenant de patients hospitalisés et non hospitalisés.

Les analyses phénotypiques des échantillons ont mis en évidence des souches de *S. aureus* sensible à la méthicilline (SASM) et des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM).

L'étude de la résistance des souches isolées vis-à-vis de 09 antibiotiques montre que :

- Les taux de résistance des MSSA sont respectivement de l'ordre de : 80%, 50%, 40% et 35% pour la pénicilline G, l'amoxicilline+acide clavulanique, l'érythromycine et l'ampicilline. Par contre aucune résistance n'a été notée pour les autres antibiotiques testés (l'oxacilline, la céfoxitine, la gentamycine, la tobramycine et le ciprofloxacine).

- Les souches de staphylocoques à coagulase négative sont plus résistantes aux antibiotiques testés par rapport aux souches MSSA.

- L'identification des résistances associées au profil MRSA a révélé l'importance de la fréquence des souches de *S. aureus* multirésistantes à divers antibiotiques : les aminosides, les macrolides, ainsi que les fluroquinolones, massivement utilisés en antibiothérapie. Nous avons enregistré une résistance de tous les MRSA à toutes les β-lactamines testés (la pénicilline, l'oxacilline, la céfoxitine, l'ampicilline et l'amoxicilline+acide clavulanique).

Les SARM représentent une part non négligeable, posant de sérieux problèmes thérapeutiques, leur taux élevé (33,33%) dénote de l'insuffisance et du dysfonctionnement de l'organisation de lutte contre ce pathogène. Ces infections ainsi que les résistances restent un problème majeur de santé publique pour cela une politique doit être adaptée et respectée dans nos hôpitaux ainsi qu'en communauté, afin de réduire la dissémination de ces souches. Cela se fait essentiellement par l'éducation des personnels en matière d'hygiène, le respect des procédures de lavage des mains, ainsi qu'une politique cohérente d'hygiène notamment dans les services à forte prévalence.

Ainsi, cette étude ouvre de nombreuses perspectives:

- Etudier une population plus importante, pendant une période plus longue.
- Mettre en évidence la distribution clonale des SARM isolés par PCR, pour avoir une image plus exacte de la situation épidémiologique.
- Mettre en place un réseau de surveillance d'infections à SARM dans toutes les wilayas d'Algérie.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Durant notre étude, nous n'avons pas pu tester la résistance des *S. aureus* vis-à-vis de la vancomycine pour cause du manque de moyens. Pour cela nous espérons qu'ultérieurement des études seront faites pour surveiller ce type de résistance. En effet, less glycopeptides (la vancomycine et la teicoplanine) sont considérés comme les antibiotiques de référence pour le traitement des infections à staphylocoques méthicillino-résistants. Les travaux en rapport avec cette résistance vis-à-vis de la vancomycine ont été traités par de nombreux auteurs citons: Jaureguy et *al*., (2012), Mainardi en 2011, Lafaurie et *al*., (2010), Daurel et Leclercq (2010),Carlet et Benali (2006) et Levent et *al*., (2005). Zribi et *al*., (2011) ont découvert la première souche de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. De même, Hammami et *al*., (2012) ont confirmé et pour la première fois, une souche de SARM de sensibilité diminuée à la teicoplanine.

En Algérie et selon Rebiahi et *al*., (2012), trois souches résistantes à la vancomycine ont été isolées au CHU de Tlemcen. Il s'agit des premières souches isolées en Algérie.

Références bibiographiques

Références bibliographiques

Adnene Hammami.A, Mezghani Maalej.S, Boutiba.I. 2012. Etat actuel de la résistance aux antibiotiques du Staphylococcus aureus en Tunisie et typage moléculaire des souches résistantes à la méthicilline. Société Algérienne de la Microbiologie clinique (SAMiC). 4eme journée scientifique sur les staphylococcus aureus : un germe des pathologies, institut pasteur de Dely Brahim Algérie. 44p.

Ahoyo.A-T, Baba-Moussa.L, Makoutode.M, Gbouhoun.A, Bossou.R, Dramane.K, Sanni.A, Prévost.G. 2006. Incidence de Staphylococcus aureus résistant à la méticilline dans le service de néonatologie du centre hospitalier départemental du Zou et des Collines au Bénin. Archives de pédiatrie. **13** (11) : 1391-1396.

Akoua-Koffi.C, Guessennd.N, Gbonon.V, Faye-Ketté.H, Dosso.M. 2004. La méthicillino-résistance de *Staphylococcus aureus* isolés à Abidjan (1998-2001): un nouveau problème en milieu hospitalier Med Mal Infect. **34:**132-136.

Aouati.H, Arafa.N, Benlabed.K, Boulahrouf.A, Bousseboua.H. 2010. Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline au centre hospitalo-universitaire BEN BADIS de Constantine, Algérie. Revue Tunisienne d'Infectiologie. **4** (4) : 129-133.

Avril.J-L. 1998. Le Remic. Réferentiel en Microbiologie Médicale.1er édition. 13-67p.

Avril.J-L, Dabernat.H, Denis.F, Monteil H. 1992. « Bactériologie clinique ». 2eme édition, ellipses. 37-39.

Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H. 2000. « Bactériologie clinique ». 3eme édition. Ellipses. 602p.

Batard.E, Potel.G. 2006. Thérapeutique des infections à staphylocoques. Maladies infectieuses. 1-8p.

Bencherif.B, Smati.F, Donnio.P-Y, Gautier.P, Ketfi.K, Bellal.A, Salhi.F, Touabti.A. 2012. Staphylococcus aureus : toxines et résistance aux antibiotiques dans la région de Sétif. Société Algérienne de la Microbiologie Clinique (SAMiC).4eme journée scientifique sur les staphylococcus aureus : un germe des pathologies, institut Pasteur de Daly Brahim Algérie. 44p.

Berche.P, Simonet.M, Gaillard.J-L.1988. Bactériologie: bactéries des infections humaines. Paris. Flammarison. Médecine-sciences. 267-276p.

Bergogne-Benzin.E, Brogar.JM. 1999. Bases biologiques de l'antibiothérapie. Masson, paris. 412p.

Bernard.E, Dellamonica.P. 1985. Traitement actuel des infections à staphylocoque doré. Rev. Méd. Interne. **6** : 455-461.

Bertrand X., Costa Y., Pina P. 2005. Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies: données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998-2003. Med Mal Infect. **35** : 329-334.

Bertrand.X, Mueller.A, Thouverez.M, Talon.D. 2004. Retour vers la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM): relation entre génotype et antibiotype. Pathologie Biologie in press.

Birgand Gabriel, Lucet Jean-Christophe. 2013. Politique de dépistage des BMR : quand et qui faut-il dépister ? Revue Francophone Des Laboratoires. **453** : 29-39.

Boulahbal.F, 2006. Microbiologie.S1 clinique. 5eme édition. 127-145.

Caby.F, Bismith.R, Bossi.P. 2010. Infections à Staphylocoques. Traité de Médecine Akos. 1-8p.

Carlet.J, Benali.A. 2006. Existe-t-il une alternative aux glycopeptides pour le traitement des infections à Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline ? Service de réanimation polyvalente, fondation hôpital-Saint-Joseph. Paris, France. **15** : 176-179.

Daurel.C, Leclercq.R. 2008. L'antibiogramme de Staphylococcus aureus. Revue froncophone des laboratoires. **407** : 81-90.

Daurel.C, Leclercq.R. 2010. Faut-il abandonner la vancomycine ? Service de Microbiologie, CHRU Côte de Nacre, 14033 Caen cedex, France. Archives de Pédiatrie. **17**: 121-128.

Delarras.C , 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Tec & Doc. Lavoisier. 357-385.

Denis.B, Elias.D. 2004. Prise en charge symptomatique de la carcinose péritonéale. Gastroentérologie Clinique et Biologique. **28** (5) : 17-25.

Données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne (ONERBA). (2005). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Médecine et Maladies Infectieuses. **35:** 155-169.

Elazhari.M. 2009. Actévité de 16 antibiotiques vis-à-vis des Staphylococcus aureus communautaires à Casablanca (Maroc) et prévalence des souches résistantes à la méthicilline. European Journal of Scientific Research. **30** (1) : 128-137.

Elazhari.M, Zerouali.K, Elhabchi.D, Cohen.N, El malki.A, Dersi1.N, Hassar.M, Timinouni.M, Saile.R. 2010. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (Maroc). Revue Tunisienne d'Infectiologie. **4** (4) : 134-140.

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** : 891–895.

Fauchère.J-L. 1997. Bactériofiches, techniques en bactériologie clinique. Paris, ellipses. **3** : 45-48.

Fauchère. J-L, Avril.J-L. 2002. Bactériologie général et médicale. Ellipses, Paris, 365p.

François Dagues, Jean-François Louis, Nicolas Mottet, Pierre Costa, Kamel Ben Naoum, Hanri Navratil. 1995. Infections urinaires. Service d'urologie-andrologie. Centre Hospitalier Universitaire Gaston-Doumergue-France. EMC, Maladies Infectieuses. 1-10.

Garnier.F, Mariani-Kurkdjian.P, Nordmann.P, Ferroni.A, Vu-Thien.H, Philippe.J-C, Raymond.J. 2002. Sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylocoques et d'entérocoques isolées en pédiatrie. Médecine et maladies infectieuses **32** : 432-438.

Garrity.G-M. 1999. Bergey's manual of systematic bacteriology 2nd edition, taxonomic outline of the archaea and bacteria. 166p.

Gordan.L, Cloeckaert.A, Boublet.B, Schwarz.S, Bouju-Albert.A, Ganiere.J-P, LeBris.H, Le fleche-mateos.A, Girand.E. 2008. Complete sequance of the floR carrying multirésistance plasmid PAB 559 from fresh water aeromonasbestiarum J.Antimicrob.chemother.62,65-71.

Gould.IM. 2005. The clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus* aureus. J Hosp Infect. **61** : 277-282.

Gross-Schulman.S, Dassey.D, Mascola.L, Anaya.C. 1998. CA-MRSA disease in three communities. In New England Journal of Medicine. **352**: 1436 -1444.

Ibra.J-R, Ollandzobo Ikobo.L-C, Atipo Ibara.B-I, Itoua Ngaporo.A. 2000. Abcés du foie à germs pyogénes aspects cliniques, morphologiques et étiologiques- à propos de 38 cas. Service de Gastro-entérologie et Médecine interne, Cebtre hospitallier et Universitaire – BP 32 – Brazaville – Congo.

Ishaku Akyala. A, Tsaku Mary Sunday.2012. Isolation of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from AIDS patients attending Dr Dalhatu Araf Specialist Hospital, Lafia and Federal Medical Centre, Keffi, Nasarawa State. International Journal of Microbiology and Immunology Research. **1** (1): 001-005.

Jacques Quevauvilliers, Alexandre Somogyi, Abe Fingerhut. 2009. Dictionnaire médical avec atlas anatomique. 6ème édition. Elsevier Masson.

Jaureguy.F, Wolff.M, Montravers.P, Salmon.D, Cordonnier.C, Brun-Buisson.C, Fantin.B. 2012. Recommandations de bon usage des glycopeptides et lipoglycopeptides. La Commission des anti-infectieux de l'Assistance publique. Paris. Journal des Anti-infectieux. **14** : 11-19.

Jehl.F, Chomarat.M, Weber.M, Gerard.A. 2003. De l'antibiogramme à la prescription. 2ème édition. Biomeriaux. 134p.

Lafaurie.M, Jaureguy.F, Lefort.A, Lesprit.P, Mainardi.J-L. 2010. Prescriptions de glycopeptides dans dix centres hospitaliers d'Île-de-France : enquête un jour donné. Médecine interne. **32** : 149-153.

Laudat.P, Demondion.E, Jouannet.C, Charron.J, Chillou.C, Salaun.V, Mankikian.B. 2011. Dépistage de Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) par biologie moléculaire (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, LightCycler Roche, Hyplex Evigene I2A) versus dépistage par culture : stratégie économico-pratique pour le laboratoire.Pathologie et Biologie. Elsevier Masson. 60 : 208-213.

Leclercq.R. 2002. Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. Service de Microbiologie, centre hospitalier et universitaire de la Cote-de-Nacre. France. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation. **21** : 375-383.

Leclercq.R, Soussy.C-J, Weber.Ph, Moniot-Ville.N, Dib.C. 2003. Activité in vitro de la pristinamycine vis-à-vis des Staphylocoques isolés dans les hôpitaux français en 1999-2000. Pathologie Biologie. **51**: 400-404.

Leclercq.H, Gaillard.J-L, Simmnet.M. 1995. Microbiologie générale de la bactérie et le monde bactérien, Edition Doin. 535p.

Lepelletier.D. 2006. Staphylococcus aureus résistant à la méticilline : incidence, facteurs de risque de colonisation et interet du dépistage systématique en unité de soins intensifs et réanimation. Annales Française d'Anesthésie et de Réanimation. **25** (6) : 626-632.

Levent.T, Lambiotte.F, Vasseur.M, De Zorzi.S, Gosteau.L, Paradis.P. 2005. Évaluation prospective de la prescription des glycopeptides dans un hôpital général. Médecine et maladies infectieuses. **35** : 411-416.

Le Minor.L, Véron.M. 1989. Bactériologie médicale. 2eme édition. Paris : Flammarison, 775-783.

Lowy.F. 1998. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med. **339** : 520-532.

Mainardi.J-L. 2011. Les glycopeptides : stop ou encore ? Médecine interne. **32** : 139-141.

Mainardi.J-L, Quincampoix.J-C. 2001. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. Service de microbiologie clinique, hôpital européen Georges-Pompidou. Paris, France. **10** : 267-275.

Mariani-Kurkdjian.P, Nebbad.H, Aujard.Y, Bingen.E. 2008. Surveillance des taux sériques de vancomycine dans le traitement des infections à staphylocoque en pédiatrie. Archives de Pédiatrie. Elsevier Masson. **15**:1625-1629.

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

Medeiros.A, Crellin.J. 2000. Evaluation of the sirscan automated zone reader in a clinical Microbiology Laboratory. J Clin. Microbiol. 38 : 1688-1693.

Mégue. J-L, Revillard. J-P, Raoult.D. 1997. Immunité et infections. Arnette. France. 448p.

Mohamedi.D, Ouar Korich.M-N, Yala.D, Merad.A-S. 2001. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Medicine du Maghreb. **91**:13-14.

Montesinos.I, Saldo.E, Delgado.T, Cuervo.T, Sierra.A. 2002. Epidemiology genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by Pulsed-Field Gel Electrophoresis at a University Hospital and Comparison with Antibiotyping and Protein A and Coagulase Gene Polymorphisms. J Clin Microbiol. **40**: 2119-2125.

Mouton.Y, Bingen.E, Deboscker.Y, Debreuil.Luc. 2001. Antibiotiques, antiviraux, anti-infectieux. 288p.

Nauciel.C. 2000. Bactériologie médicale. Masson, paris. 65-83.

Nauciel.C, Vildé.J-L. 2005. ABREGES connaissance et pratique « Bactériologie médicale ». 2ème édition. Masson, Paris. 83-85.

Nhan.T-X, Gillet.Y, Vandenesch.F. 2012. Diagnostic et traitements des infections toxiniques à *S.aureus*. Journal des Anti-infectieux. **14** : 117-126.

Oyetunji I. Ajoke, Ikenna Osemeka Okeke, Olumide A. Odeyemi, Okwori.A-E-J. 2012. Prevalence of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* from healthy community individuals volunteers in Jos South, Nigeria. **6** : 1389-1405.

Perwaiz Samia, Barakzi Qamaruddin, Badar Jehan Farooqi, Khursheed Nazia, Sabir Nasim. 2007. Antimicrobial susceptibility pattern of clinical isolates of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus.* Departments of Pharmacology, Microbiology and Pathology, Ziauddin Medical University, Karachi. **57** (1) : 2-4.

Pierre.J, Leclercq.R, Bismuth.R. 1990. Sensibilite et resistance aux antibiotiques des staphylocoques a coagulase négative. Médecine et maladies infectieuses. 29-40.

Pierre.J, Devine.C, Coignard.S 1994. Etude comparative de l'activit6 *in vitro*
du cefpirome, de l'oxacilline et du céfamandole sur les staphylocoques coagulase négative. Méd Mal Infect. **24** : 792-796.

Pillar.C-M, Draghi.D-C, Sheehan.D-J, Sahm.D-F. 2008. Prevalence of multi drug- resistant, methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* in the United States: findings of the stratified analysis of the 2004 to 2005 LEADER Surveillance Programs. Diagn Microbiol Infect Dis. **60:** 221-224.

Rahal.K, Belouni.R, Tali-Maamar.H, Boudouane.M, Missoum.M-F-K, Aboun.A. 2011. Standarisation de l'Antibiogramme en Medecine Humaine à l'echelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 6ème édition.

Rahal.K, Belouni.R, Tali-Maamar.H, Boudouane.M, Missoum.M-F-K, Aboun.A. 2010. Surveillance de la résistance des bactéries aux antibotiques, 11 ème rapport d'évaluation 2010. Projet de l'Organisation Mondiale de la Santé. 198p.

Rebiahi.S-A, Abdelouahid.D-E, Rahmoun.M, Abdelali.S, Azzaoui.H. 2012. Emergence de souches de Staphylococcus aureus résistantes à la vancomycine isolées du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie Nord-ouest). Médecine et Maladies infectieuses. **41** (12) : 646-651.

Rouzic.N, Tande.D, Payan.C, Garo.B, Garre.M, Lejeune.B. 2011. Epidémiologie des infections nosocomiales à SARM au CHU de Brest du 1er janvier 2004 au 31 décembre 2007. Impact des consommations de produits hydroalcooliques et d'antibiotiques. Pathologie Biologie. **59** : 1-5.

Sabine.R-D. 1995. Antibiotiques et antibiogrammes. 322p.

Scanvic-Hameg.A, May-Michelangeli.L, Le Turdu.F. 2002. Apport du kit Servitex Staphylocoque MRSA dans le diagnostic rapide des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline. Éditions scientifiques et médicales Elsevier. 32 : 107-110.

Shore.A-C, Rossney.A-S, O'Connell.B. 2008. Detection of Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*-Associated DNA Segments in Multiresistant Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) and identification of Staphylococcus epidermidis *ccr*AB4 in both Methicillin-Resistant *S. aureus* and MSSA. Antimicrob Agents Chemother. **52**(12): 4407-4419.

Singleton.P. 2004. Bactériologie, 6eme édition. Dunod, paris. 542p.

Soto.P, Gaete.H, Hidalgo.M-E. 2011. Assessment of catalase activity, lipid peroxidation, chlorophyll-α, and growth rate in the freshwater algae Pseudokirchneriella subcapitata exposed to copper and zinc. Lat. Am. J. Aquat. Res. **39**(2) :280-285.

Spicer W.J. 2003. Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 28-29.

Tattevin.P. 2011. Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire. Médecine et maladies infectieuses. Elsevier Masson. 1-9.

Vandenesch.F, Bes.M, Etienne.J. 2007. Staphylocoques. 1-8.

Vandenesch.F, Etienne.J, Loulergue.P, Touret.S. 2003. Le staphylocoque doré résistant à ma méticilline d'origine communautaire. Thèse de diplôme d'études supérieures. 27p.

Vincenot.F, Saleh.M, Prévost.G. 2008. Les facteurs de virulence de Staphylococcus aureus. Revue Francophone des Laboratoires. 61-69.

Viral P Shah, Neetu Mundra, Swati Vachhani, Hiral Y Shah, Hlral Gadhvi, Hitesh Shingala, Mala Sinha. 2012. Prevalence and antibiotic susceptibility pattern of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus in a Tertiary Care Hospital, Jamnagar, Gujarat. International journal of scientific research. Indexed with international ISSN Directory, Paris. **1** (3): 81-82.

Walter.J, Vidon.D, Jacob.S, Jardot.F, Reichhart.D. 1976. Résistance aux antibiotiques des Staphylococcus aureus, Escherichia coli et Salmonella isolés des aliments. Médecine et Maladies Infactieuses. **6** (11) : 459-465.

Zribi.M, Etienne.J, El Euchb.D, Zribi.H, Besc.M, Meugnierc.H, Masmoudia.A, Osmanb.A-B, Fendri.C. 2011. Détection de la première souche de Staphylococcus aureus de sensibilité diminuée aux glycopeptides à l'hôpital la Rabta de Tunis. Laboratoire de microbiologie, hôpital La Rabta, Tunisie. Pathologie Biologie. **59 :** 334–335.

Annexes

Annexe 01 :

Matériel non biologique

a. Verreries et autres :

- Pince
- Ecouvillon en coton
- Tubes à essai stériles
- Pipettes pasteur
- Anse de platine
- Lames et lamelles
- Boite de pétri
- Poire d’aspiration
- Portoirs pour les tubes
- Tubes secs stériles
- Lames à numération (KOVA)
- Disques d’antibiotiques

b. Appareillage :

- Microscope optique
- Etuve
- Bec bunsen
- Densitomètre
- Plaque chauffante
- Réfrigérateur
- Pied à coulisse

c. Milieux de culture :

- Gélose chromogéne
- Milieu Muller Hinton
- Gélose Chapman
- Gélose au sang cuit
- Gélose au sang frais
- Gélose PCB

d. Solutions stériles et réactifs :

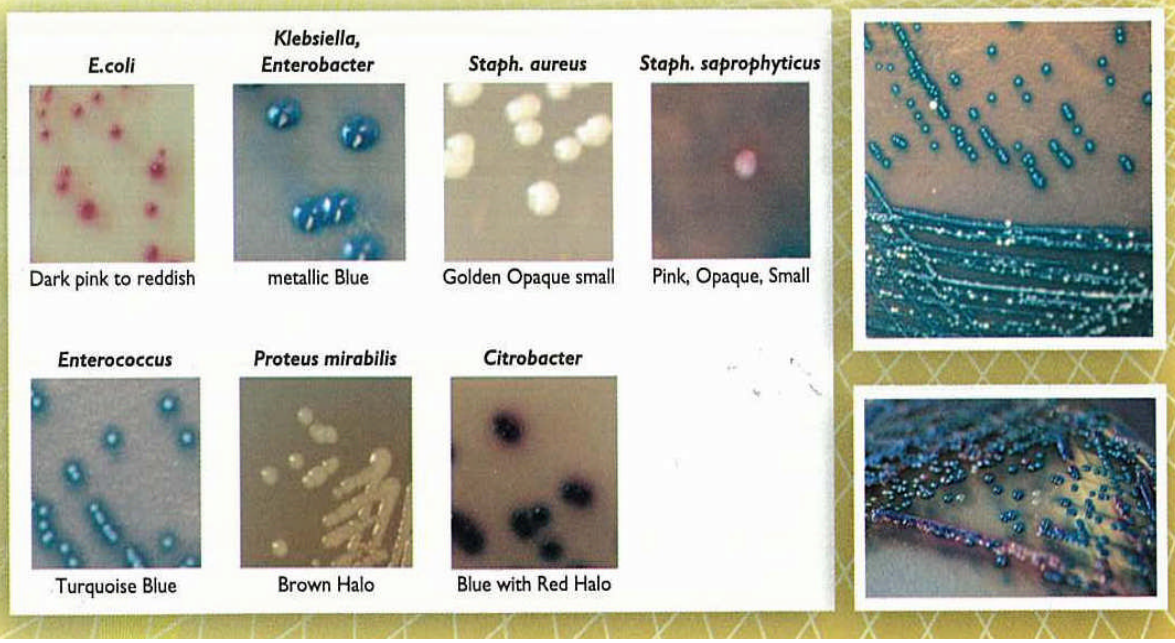
- Violet de gentiane 1%
- Lugol 10%
- Alcool à 90%
- Huile à immersion stérile
- Fuschine 1%
- Eau oxygénée
- Eau physiologique stérile
- Eau de javel

Annexe 02 : Aspect typique de micro-organisme sur un milieu chromogène (CHROMagar Orientation)

Micro-organisme	*Aspect typiques des colonies*
E.coli	Roses foncées à rougeâtres
Enterococcus	Bleues turquoises
Klebsielle, Enterobacter,Citrobacter	Bleues metalliques
Proteus	Halot brun
Pseudomonas	Crèmes, Translucides
Staphylococcus aureus	Dorées,opaques, petites
Staphylococcus saprophyticus	Roses, opaques, petites

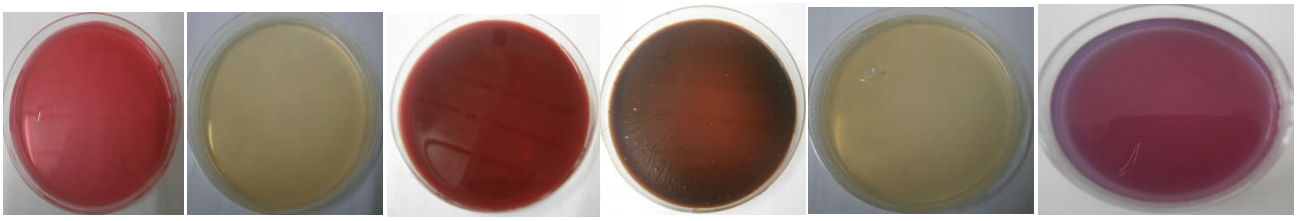
CHROMagar™ Orientation

Aspect typique de micro-organismes



Annexe 03 : Matériels utilisés durant le stage

a. Les géloses utilisés pour l'identification des staphylocoques de gauche à droite :gélose Chapman, gélose chromogéne (CHROMagar orientation), gélose au sang frais, gélose au sang cuit, milieu Muller Hinton et gélose lactosée au bromocrésol pourpre (BCP).



b. Densitomètre et l'agitateur pour la suspension bactérienne:

c. Solutions stériles et réactifs : la fuschine, l'eau oxygénée, l'alcool, violet de gentiane, le lugol et l'eau physiologique stérile.

d. Pied à coulisse, écouvillon, pipette pasteur, disques d'antibiotique :

Annexe 04

Tableau VI : Les antibiotiques testés pour les staphylocoques.

Familles	Antibiotiques testés	Signe de disque	Charge du disque
β-lactamines :	-pénicilline	P	6µg
-Pénicilline	-Ampicilline	AMP	10µg
	-Amoxicilline+acide clavulanique	AMC	20+10µg
	-Oxacilline	OXA	5µg
-Céphalosporine	-Céfoxitine	FOX	30µg
Aminosides	-Gentamycine	GM	15µg (10Ul)
	-Tobramycine	TOB	10µg
Macrolides	-Erythromycine	E	15Ul
Quinolones	-Ciprofloxacine	CIP	5µg

Annexe 05 :

<u>Tableau VII</u>: Concentrations critiques et diamètres critiques pour *Staphylococcus* spp. (CA-SFM).

Antibiotiques testés	Diamètres critiques (mm)			Concentrations critiques (mg/l)		Charge du disque
	R	I	S	S	R	
β-lactamines :						
-Pénicilline	<8	---	≥29	≤ 0.25	>16	6µg (10UI)
-Ampicilline	<14	14-18	≥19	≤ 4	>16	10µg
-Amoxicilline+acide clavulanique	<14	14-20	≥ 21	≤ 4	>16	20+10µg
-Oxacilline	<20	---	≥ 20	≤ 2	>2	5µg
-Céfoxitine	<25	25-26	≥ 27	≤ 8	>32	30µg
Aminosides :						
-Gentamycine	<20	---	≥ 20	≤ 1	>1	15µg (10UI)
-Tobramycine	<20	---	≥ 20	≤ 1	>1	10µg
Macrolides :						
-Erythromycine	<17	17-21	≥ 22	≤ 1	<4	15UI
Quinolones :						
-Ciprofloxacine	<19	19-21	≥ 22	≤ 1	>2	5µg

Annexe 06 :

Composition des milieux de culture :

Gélose CHROMagar orientation :

- Peptone et extrait de levure……..17g
- Mélange chromogénique……1g
- Agar……..15g
- Eau distillée…….1000ml

pH= 7,2

Gélose Muller Hinton :

- Infusion de viande de bœuf déshydratée……300g
- Hydrolysat de caséine……..17,5g
- Amidon de mais……1,5g
- Agar……13g
- Eau distillée……1000ml

pH= 7,4

Gélose Chapman :

- Peptone…….....11,0g
- Extrait de viande…….....1,0g
- Chlorure de sodium……..75,0g
- Mannitol……10,0g
- Rouge de phénol……0,025g
- Agar……15,0g
- Eau distillée…….....1000ml

pH= 7,1

Gélose au sang :

- Mélanges spécial de peptones.....23g
- Amidon……..1,0g
- Chlorure de sodium.....5,0g
- Agar……10,0g
- Sang de mouton……..50ml
- Eau distillée……1000ml

pH = 7,3

Gélose lactosée au bromocrésol pourpre :

- Peptone……..5g
- Extrait de viande de bœuf……3g
- Lactose……10g
- Bromocrésol pourpre……..25mg
- Agar…….15g
- Eau distillée…….1000ml

pH= 6,8