

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de BLIDA -SAAD DAHLEB - USDB

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Biologie



Mémoire

Présenté pour l'Obtention du Diplôme de Master 2 en biologie

Option : microbiologie / bactériologie

Préparé par : TEGGAR Fatima

Thème

Etude de la résistance des souches
de *Staphylococcus aureus* isolées en milieu
hospitalier

Soutenu le :19 /12/ 2013, Devant le jury :

Mr BAGDADI .A	Maitre-assistant A(U.S.D.B)	Président
Mme KESKAS.S	Maitre assistante B (U.S.D.B)	Examinatrice
Mme AISSANLR	Maitre assistante A (U.S.D.B)	Examinatrice
Mr BACHIR PACHA .M	Professeur (U.S.D.B)	Promoteur
Mme TACHET.H	Maitre assistante (E.P.H.B)	Co promotrice

Année universitaire : 2012/2013

J'exprime tout d'abord, mes profonds remerciements et louanges à DIEU tout puissant, qui m'a guidé sur le droit chemin et m'a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Remerciements

Ce mémoire n'aurait vu le jour sans la patience et le soutien de mes parents que je veux vivement remercier

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon profond respect à mon Directeur de mémoire, **Mr BACHIR PACHA.M**, Professeur à l'université SaadDahleb, pour sa patience, ses précieux conseils, la rigueur et l'orientation dont j'ai pu bénéficier.

Je remercier également ma Co promotrice **Mme TACHET.H**, Maître assistante auEPH de Blida qui m'a toujours montrée de l'intérêt pour mes travaux, j'espère que ce mémoire sera un remerciement suffisant au : soutien, sympathie, conseils, disponibilité et à la confiance sans cesse renouvelée dont elle a fait preuve à mon égard

Je tiens à exprimer ma grande considération et mes sentiments de reconnaissance à **Mr BAGDADI.A** Maître-assistant A à l'université SaadDahleb - BLIDA, qui me fait l'honneur de présider le jury.

C'est avec un très grand plaisir que je remercie infiniment **Mme AISSANI.R** Maitre assistante A à l'université Saad dahleb - BLIDA, d'avoir bien voulu examiner ce modeste travail, qu'elle trouve ici ma très profonde gratitude.

Je voudrais exprimer également ma sincère reconnaissance à **Mme KESKAS.S**, Maitre assistante B à l'université Saad Dahleb-BLIDA, qui me fait l'honneur d'accepter d'examiner mon travail.

J'adresse mes chaleureux remerciements à **Mme BENAMARA.M** assistante en microbiologie au CHU Frantz Fanon - BLIDA Pour ses précieux conseils, ses encouragements, son aide et sa gentillesse, elle a été une grande sœur ; toujours à mes côtés.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leurs encouragements et leur soutien tout au long de mes études, que DIEU les bénisse. A vous ma grand-mère Messeouda à qui je témoigne toute ma reconnaissance

Je dédie également tous mes remerciements à ma jumelle Kheira ainsi qu'à mes chères sœurs (Karima et Djamila) et mes chers frères (Ismail et Youssef), à qui je souhaite beaucoup de bonheur et réussite dans leurs vies

Je souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de bonheur à mon frère Badredinne ; qui es le meilleur frère qui puisse exister

Un grand merci à ma mère Fatima et mon grand-père Taib et leurs grande famille

Particulièrement : Mahdia, Soumia, Rima et Amina

Sans oublier ma tante Fatiha et sa famille

Je pense fort à tonton Kader, Nicole, la famille et surtout ma chère Yasmina et son fiancé

J'embrasse tous mes amies (Rima . Samia . nahla . feryal . Meriem . Houda...) et tous mes collègues de promotion

Ainsi que tous ceux qui ont partagé avec moi ses longues années d'études

Pour finir une pensée pour ceux dont le nom n'apparaît pas dans cette dédicace

Fatima

Liste des abréviations

ATB : Antibiotique

ATCC : American Type Culture Collection

B-Lactamines : Famille d'antibiotiques regroupant les pénicillines et les céphalosporines

BMR : Bactéries multirésistantes

BORSA : Borderline oxacillin résistant *Staphylococcus aureus*

CGP : Cocci à Gram positif

CHU : Centre hospitalier universitaire

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institut

CMI : Concentration minimale inhibitrice

ECBU : Examen cyto bactériologique des urines

FDA : Food and Drug Administration FDA

GISA : Glycopeptide intermediate *Staphylococcus aureus*

GSC : Gélose au sang cuit

GSF : Gélose au sang frais

KR : Phénotype de Résistance à la Kanamycine

KTGR : Phénotype de Résistance à la Kanamycine à la Tobramycine et à la Gentamycine

KTR : Phénotype de Résistance à la Kanamycine et à la Tobramycine

LCR: Liquide Céphalo-Rachidien

McF : MacFarland

MLS: Macrolides – Lincosamides- streptogramines

MLS_{Bc}: Phénotype de Résistance acquise par mutation et Méthylation de la cible de l'antibiotique, "c" pour "constitutif"

MLS_{Bi}: Phénotype de Résistance acquise par mutation et Méthylation de la cible de l'antibiotique, "i" pour "inductible"

MODSA: Modified *Staphylococcus aureus*

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standard

PLP : Protéine de Liaison de la Pénicilline au Peptidoglycane

PLP2a : Protéine Liant pénicilline mutée

PVL :Panton Valentine Leucocidine

S.aureus :*Staphylococcus aureus*

SARM :*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SASM:*Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline

SCC mec :Staphylococcal Cassette Chromosome mec

SCN : Staphylocoque à coagulase négative

SCP :Staphylocoque à coagulasepositive

SCTS: Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique

SFM : Société française de microbiologie

TSST-1:ToxicShock Syndrome Toxin -1

VISA :vancomycinintermediate*Staphylococcus aureus*

VRSA :Vancomycin Résistant *Staphylococcus aureus*

Liste des tableaux

Tableau I	Classification selon la 2ed édition « Bergey's manuel of systematic bactériology
Tableau II	Les principaux caractères biochimiques
Tableau III	Principaux effets des toxines produites par <i>S.aureus</i>
Tableau IV	Principaux effet des enzymes produits par <i>S.aureus</i>
Tableau V	Modes d'action des antibiotiques
Tableau VI	Histoire de la résistance du <i>S.aureus</i> aux antibiotiques
Tableau VII	Mécanismes de résistance de <i>S.aureus</i> et prévalence des résistances aux antibiotiques
Tableau VIII	Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistances
Tableau IX	Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux macrolides et apparentés
Tableau X	Méthode de réalisation et les conditions de transport des prélèvements
Tableau XI	Souches de références
Tableau XII	Différents aspect macroscopique de <i>S.aureus</i> aux différents milieux de culture
Tableau XIII	Recherche de la résistance à l'oxacilline et l'interprétation des tests (Méthode de diffusion des disques)
Tableau XIV	Résultats de l'identification des <i>Staphylococcus aureus</i> ainsi que de la résistance à la méticilline
Tableau XV	Répartition des prélèvements selon leur nature
Tableau XVI	Répartition des prélèvements selon leur culture
Tableau XVII	Taux des staphylocoques par rapport aux autres germes
Tableau XVIII	Fréquence d'isolement de <i>S. aureus</i>
Tableau XIX	Répartition de <i>S.aureus</i> par rapport aux autres staphylocoques
Tableau XX	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> en fonction des prélèvements
Tableau XXI	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> en fonction des services
Tableau XXII	Le taux des souches MSSA et MRSA
Tableau XXIII	Les phénotypes de résistance des souches MSSA
Tableau XXIV	Les phénotypes de résistance des souches MRSA
Tableau XXV	Répartition des <i>S.aureus</i> selon leurs sensibilités et résistances aux ATB
Tableau XXVI	Répartition des MSSA selon leurs résistances aux ATB
Tableau XXVII	Répartition des MRSA selon leurs résistances aux ATB
Tableau XXVIII	Matériel, fournitures et équipements de base d'un laboratoire de microbiologie
Tableau XXIX	Milieux de culture, et disques imprégnés
Tableau XXX	Liste des ATB utilisées pour les staphylocoques
Tableau XXXI	Répartitions des souches de <i>S.aureus</i> selon les patients externes et hospitaliers
Tableau XXXII	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon le sexe
Tableau XXXIII	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon l'âge
Tableau XXXIV	Répartition des patients selon la pathologie
Tableau XXXV	Techniques utilisées pour la recherche de la résistance à l'oxacilline
Tableau XXXVI	Interprétation des tests de recherche de la résistance à l'oxacilline

Liste des figures

Figure 01	Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>
Figure 02	Transmission des staphylocoques
Figure 03	Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i>
Figure 04	Utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances par <i>S.aureus</i>
Figure 05	Différents aspect cliniques d'infections causées par <i>S.aureus</i>
Figure 06	Etape d'une étude cyto bactériologique d'un prélèvement
Figure 07	Test d'agglutination pastorex
Figure 08	Ensemencement par écouvillonnage sur gélose Mueller Hinton
Figure 09	Disposition des disques d'antibiotiques
Figure 10	La lecture d'un antibiogramme
Figure 11	Test de diffusion du disque de cefoxitine avec un diamètre ≥ 22 mm (MSSA)
Figure 12	Test de diffusion du disque de cefoxitine avec un diamètre ≤ 21 mm (MRSA)
Figure 13	Test de diffusion de disque d'oxacilline (MSSA)
Figure 14	Test de diffusion de disque d'oxacilline (MRSA)
Figure 15	Détection de la résistance inductible (MLSb inductible) dans l'antibiogramme standard
Figure 16	Répartition globale des prélèvements selon leur nature
Figure 17	Répartition des prélèvements selon leur culture
Figure 18	Taux de staphylocoques par rapport aux autres germes
Figure 19	Répartitions de <i>S.aureus</i> par rapport aux autres staphylocoques
Figure 20	Répartitions des souches de <i>S.aureus</i> selon les patients externes et hospitaliers
Figure 21	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> en fonction des prélèvements
Figure 22	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon le sexe
Figure 23	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon l'âge
Figure 24	Répartition des souches de <i>S. aureus</i> en fonction des services
Figure 25	Répartition des patients selon la pathologie
Figure 26	Le taux des souches MSSA et MRSA
Figure 27	Répartition des <i>S.aureus</i> selon leurs résistances aux ATB
Figure 28	Répartition des <i>S.aureus</i> selon leurs sensibilités aux ATB
Figure 29	Répartition des MSSA selon leurs résistances aux ATB
Figure 30	Répartition des MRSA selon leurs résistances aux ATB
Figure 31	Phénotypes de résistance des MSSA aux aminosides
Figure 32	Phénotypes de résistance des MRSA aux aminosides
Figure 33	Phénotypes de résistance aux aminosides
Figure 34	Phénotypes de résistance des MSSA aux MLS
Figure 35	Phénotypes de résistance des MRSA aux MLS
Figure 36	Phénotypes de résistance aux MLS

Résumé

Les *Staphylococcus aureus* sont des bactéries connues depuis longtemps ; ces dernières années, il y'a regain d'intérêt pour cette bactérie en raison de la présence des souches de *S.aureus* résistantes à l'oxacilline (SARM) isolés plus en plus en milieu communautaire

Durant une période de 06 mois allant du 1^{er} janvier au 30 juin 2013, nous avons récolté 109 souches de *S.aureus* à partir de différents prélèvements (pus, sang...) provenant des malades externes et hospitalisés âgés de 1 jour à 76ans

Pour une étude prospective, ce travail a permis d'obtenir les résultats suivants :

- ✓ 89% sont des malades hospitalisés
- ✓ 58,72% des *S.aureus* isolés provenaient de pus
- ✓ 53 souches étaient des MRSA, ce qui représente 48,72% (toutes ces souches étaient presque multirésistantes)
- ✓ Les 56 MSSA étaient beaucoup moins résistantes et ont exprimé dans la majorité des cas une résistance isolée à la pénicilline
- ✓ Sur les 109 souches isolées de *S.aureus* aucune n'était de phénotype sauvage

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

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, multirésistances, MRSA , MSSA.

بكتيريا المكورات العنقودية معروفة منذ زمن طويل. وهناك اهتمام متزايد بالنسبة لهذه البكتيريا في السنوات الاخيرة و ذلك راجع لوجود سلالات المكورات العنقودية المقاومة للأوكساسيلين معزولة بكثرة

خلال فترة 6 اشهر الممتدة من 01 جانفي الي 30 جوان 2013 قمنا بجمع 109 سلالة من بكتيريا المكورات العنقودية من عينات مختلفة . لمرضى داخل المستشفى و خارجه تتراوح اعمارهم من يوم واحد الى 76 سنة

في دراسة استطلاعية. هذا العمل يلخص لنا النتائج التالية :

◀ 89% تمثل نسبة المرضى داخل المستشفى

◀ 58.72% من المكورات العنقودية معزولة من القيح

◀ 53 سلالة تمثل مكورات عنقودية مقاومة للاوكساسيلين بنسبة 48.72 % (معظم هذه السلالات لها مقاومة متعددة)

◀ 56 سلالة تمثل مكورات عنقودية حساسة للاوكساسيلين . اقل بكثير فيما يخص المقاومة و معظمها لها مقاومة معزولة للبنسلين

◀ في 109 سلالة معزولة و لا واحدة لها نمط ظاهري همجي

الكلمات المفتاحية :

المكورات العنقودية. مقاومة متعددة. المكورات العنقودية المقاومة للاوكساسيلين . المكورات العنقودية الحساسة للاوكساسيلين

Abstract

The *Staphylococcus aureus* bacteria are known long time ago, in recent years, there is an increase interesting about this type of bacteria in the last years. This is done for Oxacilline resisting samples which are isolated a lot

A survey was done particularly on 109 samples this bacteria and on different types, during the period from 1er January to 30 June 2013, the survey done on 2 sample group coming from the external and hospitalized patients old of 1 day at 76 years

The survey shows the following findings:

- ✓ 89% presents the percentage of patients hospitalized
- ✓ 58.72% presents *S.aureus* isolated from pus came
- ✓ More than 53 simple represent bacteria of *staphylococcus* which are very resisting to oxacilline by 42.72%
- ✓ 56 type represent type which is very sensitive to oxacilline
- ✓ 109 isolated (separated) and no one has visual spontaneous patties

The evolution of resistance during these last years showed that the rates of resistance remain high and do not decrease.

Key words:

Staphylococcus aureus, multirésistances, MRSA, MSSA.

Sommaire

Introduction	01
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	
I. Le genre <i>Staphylococcus</i>	02
I.1. Historique.....	02
II. Généralité sur les <i>Staphylococcus aureus</i>	02
II-2- Classification	03
II -3- Caractères bactériologiques	03
II-4-Habitat et transmission	04
II -5. Physiopathologie	04
II -6- Virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	05
I- <i>Staphylococcus aureus</i> et résistance aux antibiotiques	
III- 1- Les antibiotiques	08
III- 2- La Résistance bactérienne aux antibiotiques	08
III- 2- 1- Historique de la résistance	09
III- 2- 2- Définition de la résistance bactérienne	10
III- 2- 3- Les types de résistance bactérienne	10
III- 2- Mécanismes de résistance de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques	11
III- 2- 1- Résistance aux bêta-lactamines.....	12
III- 2- 2- Résistance aux glycopeptides.....	13
III- 2- 3- Résistance aux aminosides	14
III- 2- 4- Résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramines (MLS)	15
III- 2- 5- Autres résistances	15
IV.Traitement des infections a <i>S.aureus</i> et prophylaxie	16
IV.Les différents types des infections à <i>S.aureus</i>	18

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1. Population étudiée	19
2. Matériel et méthodes	19
2.1. Matériel.....	19
2.2. Méthodes	20
I. Étude cytobactériologique	20
2.2.3. Examen macroscopique	20
2.2.4. Examen microscopique	21
2.2.5. Examen bactériologique	22
II. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	25
□ Recherche de la résistance à la méticilline	25
□ Test de diffusion (méthode des disques)	28
III. Contrôles de qualité d'antibiogramme	31

Chapitre 3 : Résultats et discussion

I. Résultat.....	32
1) Répartition globale des prélèvements selon leur nature	34
2) Cultures des prélèvements	35
II. Etude de la répartition des souches de <i>S.aureus</i> isolés	36
a) Taux des staphylocoques par rapport aux autres germes	36
b) Taux de <i>S.aureus</i> par rapport aux autres staphylocoques	37
c) Prévalence des souches de <i>S.aureus</i> selon que les patients soit hospitalisés ou non	37
d) Répartition des souches de <i>S. aureus</i> selon le sexe, les prélèvements et les services ...	38
III. Résistance à l'oxacilline et proportion des souches MRSA	42
□ Etude de phénotype de résistance	43
IV. Etude de la résistance et la sensibilité des <i>S.aureus</i> aux antibiotiques.....	45
V. Répartition des phénotypes de résistance aux aminosides.....	49

VI. Répartition des phénotypes de résistance aux Macrolides –Lincosamides – streptogramines (MLS)	50
--	-----------

Discussion générale	53
----------------------------------	-----------

Conclusion	57
-------------------------	-----------

Recommandations

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Les bactéries du genre *Staphylococcus* ou staphylocoques sont responsables d'un grand nombre d'infections et représentent un problème hospitalier important. Ces bactéries sont des cocci à Gram positif, qui peuvent être classées en deux grands groupes que l'on distingue par la production d'une protéine, la coagulase, déclenchant la coagulation du plasma. On distingue ainsi les staphylocoques à coagulase négative, dont le représentant principal est *Staphylococcus epidermidis* et les staphylocoques à coagulase positive, dont le représentant principal est *Staphylococcus aureus*, bien connu pour sa virulence.

Un peu plus de 50 ans après la découverte des premiers antibiotiques, le problème de la résistance aux agents anti-infectieux est devenu un souci majeur. Parmi les bactéries touchées par ce phénomène, les staphylocoques dorés (*Staphylococcus aureus*)

Les staphylocoques isolés avant 1940 étaient uniformément sensibles à la pénicilline. En 1944 déjà, les premières souches résistantes sont observées. Cette résistance est conférée par la présence d'un plasmide codant pour une pénicillinase capable d'hydrolyser le noyau bêtalactame. Dès 1950, 10 ans à peine après la découverte de la pénicilline, les *S. aureus* deviennent à nouveau un problème thérapeutique majeur, notamment dans les hôpitaux où de nombreuses épidémies sont observées.

Le point de départ de ce travail était de réaliser une analyse phénotypique d'un échantillon de souches de *S. aureus* isolées de différents produits pathologiques pendant une période de 6 mois dans le laboratoire de microbiologie au CHU Mustapha Bacha .

Pour l'analyse phénotypique des souches, nous avons étudié leur sensibilité vis-à-vis un panel d'antibiotiques, la technique de l'antibiogramme est une méthode simple, standardisée, utilisée en routine au laboratoire de bactériologie médicale et qui a des implications thérapeutiques immédiates.

Dans ce travail, nous allons comparer à l'aide de cette analyse phénotypique les souches de *S. aureus* résistante à la méthicilline ou SARM et des souches de *S. aureus* sensible à la méthicilline ou SASM. L'étude réalisée était principalement centrée sur ces deux groupes.

Les objectifs de cette étude sont :

- ✓ L'isolement et l'identification des souches de *S.aureus* dans divers produits pathologiques des malades hospitaliers et externes
- ✓ Etudier la résistance des souches de *S.aureus* vis-à-vis de certaines familles d'antibiotique
- ✓ Etudier les phénotypes de résistance des souches

Le but de notre travail est d'étudier les caractéristiques bactériologiques des infections staphylococciques à travers une étude prospective

I. Le genre *Staphylococcus*

I.1. Historique :

Dans les deux premières communications à l'académie des sciences en 1876 et 1880, Louis Pasteur a révélé et insisté sur l'existence de cette bactérie, qu'il avait isolée à la fois du pus de l'anthrax et de l'ostéomyélite et aussi des eaux de la seine (25,60)

Ces germes, disposés en grappes de raisin à l'examen microscopique, ont été décrits par Robert Koch en 1878 (72).

Ces isolats observés et identifiés en 1879 dans des pus de furoncle et d'ostéomyélite par Pasteur comme étant "un organisme unique, formé de petits points sphériques, réunis par couple, rarement par quatre, mais très fréquemment associés en petits amas". Ainsi, ils les ont cultivés en 1880 et disait que "l'ostéomyélite est le furoncle de la moelle épinière"(14,72)

En 1882 que le nom "Staphylocoque" a été donné par le chirurgien Ogston, pour décrire ces grains (kokkos), groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (Staphylos) (24,75).

En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries, il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées (05)

A ce jour, cinquante espèces et sous-espèces ont été identifiées au sein du genre *Staphylococcus*. Les espèces sont généralement classées en deux groupes sur la base de leur capacité à produire une coagulase libre : les staphylocoques à coagulase positive (SCP), généralement considérés comme les plus pathogènes et les staphylocoques à coagulase négative (SCN).

II- Généralité sur les *Staphylococcus aureus*

II-1- Généralité :

Découverts en 1879 par Pasteur dans le pus de furoncles et d'ostéomyélite ; les *Staphylococcus aureus* sont des cocci gram positif groupés en amas

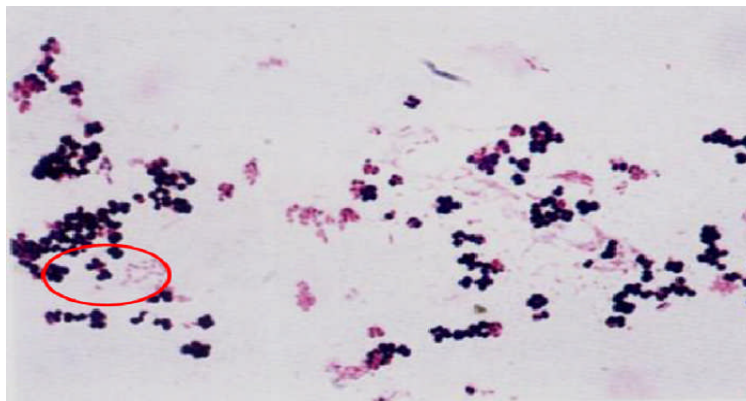


Figure 01: Observation microscopique de *Staphylococcus aureus* (72)

Staphylococcus aureus caractérisés par la production d'une coagulase, d'une ADN ase ; par l'acidification du mannitol en anaérobiose (26)

II-2- Classification :

Elle appartient actuellement à la famille des Staphylococcaceae dans laquelle sont également inclus les genres Micrococcus, Gamella, Geotgalicoccus et Salinicoccus(31.21)

Tableau I: Classification selon la 2ed édition « Bergey's manuel of systematicbactériology »,2001

Domaine	Bactéria
Phylum	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Famille	Staphylococaceae
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

II -3- Caractères bactériologiques :

II -3-1- Caractères morphologiques et culturaux :

S.aureus sont immobiles, non sporulés, et ne présentent pas de capsule visible au microscope optique, à l'examen microscopique du gram, *S.aureus* apparaissent comme des cocci à gram positif arrondis de 0.7um de diamètres, ils sont le plus souvent groupés en amas dit en grappes de raisins , Les amas sont particulièrement nets dans des préparations fait à partir de cultures sur milieux solides, dans des cultures liquides et produits pathologiques, les amas sont beaucoup plus petit (3 à 4 éléments ou même isolés, ou en paires)

S.aureus est aéro-anaérobies facultatif se cultive facilement en 18heures sur milieux ordinaires et peut être isolé sur milieux sélectifs (milieux hypersclé de Chapman), La température optimale de croissance est de 37°c 10 à 45°c, Le PH optimale est 7.5

En bouillon ordinaires, la culture est rapide, ou troubles homogènes puis un dépôt sont observés ; Sur gélose ordinaires, les colonies sont lisses, rondes, bombées et leurs diamètre est de un millimètre ; La plupart des souches élaborent un pigment jaune doré ou jaune-citrin non diffusible dans le milieu. (05,19, 64)

II-3-2- Caractères biochimiques : Les principaux caractères biochimiques sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau II: Les principaux caractères biochimiques (31. 15)

Caractères	<i>S.aureus</i>
Oxydase	-
Catalase	+
Coagulation (plasma du lapin)	+
Fermentation du glucose sans production de gaz	+
Dégradation du mannitol	+
Production de l'indole	+
Production de l'acétone	+
Uréase	+
Présence de nitrate réductase	+
Réduction du tellurites de potassium entellure	+
Thermo nucléaseouDNasethermostable	+

II-4-Habitat et transmission :

Généralement retrouvé dans la muqueuse nasale de la fosse nasale antérieure ainsi que sur la peau, la bouche, le pharynx, et le périnée , La transmission se fait directement par gouttelettes, par la poussière, des squames cutanées et des objets. **(05)**

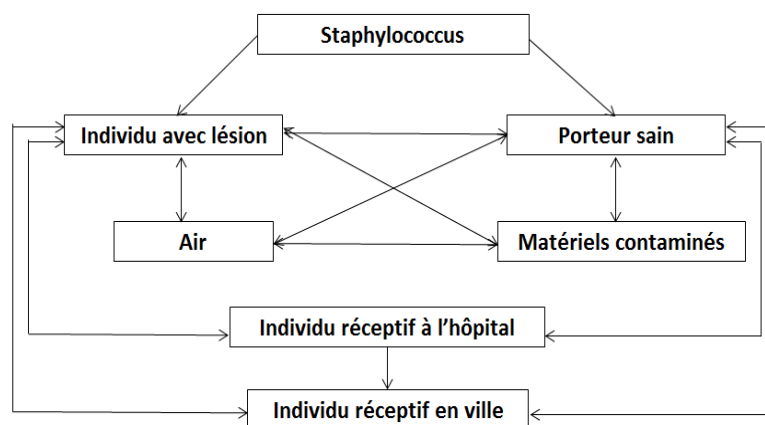


Figure02 : Transmission des *Staphylocoques* (05)

II -5. Physiopathologie

II-5-1- Pouvoir pathogène naturel : Les manifestations pathologiques dues à *S.aureus* sont très nombreuses, elles sont suppuratives, nécrotique ou entériques

II-5-1-1- Les suppurations localisées : On peut distinguer :

- Les infections cutanées : furoncle, abcès, panaris, anthrax, impétigo
- Les infections a ORL diverses : sinusites, otite, mastoïdes
- Les infections des séreuses : arthrite, pleurésie, péritonite
- Les infections viscérales : abcès du poumon, abcès de cerveau, phlegmon périnéphritique

II-5-1-2- Septicémies à *S.aureus* et les endocardites :

Peuvent être secondaires à n'importe quel foyer infecté, mais la fréquence des infections sur cathéter est à souligner, l'incidence des endocardites à *S.aureus* c'est accrue avec les prothèses valvulaires intracardiaques signalons la gravité des endocardites du cœur droit chez les héroïnomanes, Les septicémies sont caractérisées par la fréquence des métastases par embolies septiques, malgré l'antibiothérapie, la mortalité restée élevée

II-5-1-3- Les manifestations digestives :

Les toxi-infections alimentaires surviennent deux à six heures après l'ingestion d'un aliment contaminé contenant l'entérotoxine staphylococcique thermostable, elles sont caractérisées par des vomissements incoercibles chez un malade sans fièvre les entérocolites staphylococciques consécutives à un traitement antibiotique (tétracycline) sont exceptionnelles aujourd'hui, la flore y est remplacée par *S.aureus*

II -5-1-4- Syndrome du choc toxique :

Ce syndrome associe une fièvre avec éruption scarlatiniforme une hypertension et des atteintes cérébrales, rénales, hépatiques et musculaires, Les hémocultures et le LCR sont stériles, La symptomatologie est due à une toxine de staphylocoque (TSST), les premières observations décrites à certains des femmes en période menstruelle, utilisent des tampons périodiques contaminés par *S.aureus* (29, 30)

II -6- Virulence de *Staphylococcus aureus*:

Des constituants de la paroi et des substances enzymatiques ou toxiques produits par *S.aureus* sont des facteurs de virulence (29)

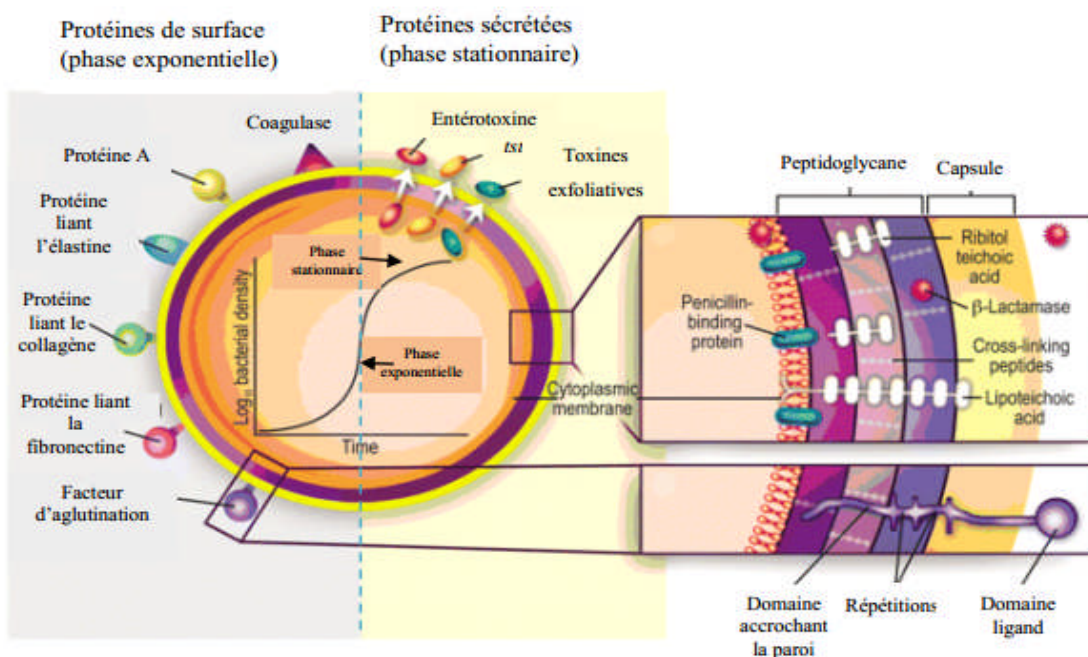


Figure 03: Facteurs de virulence de *S. aureus* (34)

II -6-1- Constituants de la paroi :

Le peptidoglycane et les acides échoïques induisent la production de cytokine impliqué dans le choc infectieux, La protéine A, liée au peptidoglycane fixe le fragment FC des immunoglobulines G (05)

II -6-2- Les substances élaborées :

Toutes les souches de *S.aureus* produisent des protéines excrétées dans le milieu extracellulaire et douées d'une activité toxique enzymatique.

II -6-2-1- Les Toxines :

Elles effectuent le fonctionnement ou la morphologie de cellule d'hôte

Tableau III: Principaux effets des toxines produit par *S.aureus* (45, 63,05)

Toxine	Nature	Effet sur l'hôte
Toxine α	Protéique Thermostable Antigénique	Destruction des membranes cellulaires (érythrocyte, leucocyte) dermonecrotique entraîne la formation d'antitoxine
Toxine β	Phospholipase de type C	Hémolyse Dégradation de sphingomyéline
Toxine γ	2 facteurs 1 et 2 agissent sur synergies	Hémolyse
Hémolysine	Protéine de masse moléculaire (MM) de 30 Kda	Hémolysine active surtout sur les hématies de lapin à 37°C
Toxine δ	Protéine thermostable hydrophobe	Hémolyse Inhibition de la respiration mitochondriale et de la phosphorylation
Leucocidine	A et F agissent sur synergie	Action spécifique sur les granulocytes, les macrophages et les basophiles immobilisations des leucocytes Responsable des lésions nécrosantes tell que : furoncle, gangréné
Exfoliantine	2 protéines A et B	Responsable de la staphylococcie cutanée bulleuse Entraine des lésions intra épidermique
Entérotoxine	Holoprotéine résistantes aux enzymes protéolytique	Responsable d'intoxications alimentaires
TSST-1 toxine du syndrome de choc toxique staphylocoque	Protéine super antigénique sensible aux enzymes protéolytique	Suppression de la synthèse des anticorps Stimulation de la formation de lymphocytes T et de cytokine

II -6-2-2- Les Enzymes :

Les différents enzymes produits par *S.aureus* et leur effet biologiques sont représentés dans le **tableau IV**:

Tableau IV: Principaux effet des enzymes produits par *S.aureus* (45, 63,05)

Enzymes	Effets biologiques
Coagulase Libre : c'est une exo enzyme thermostable synthétisé pendant la phase exponentiel Liée (clomping facteur) : substance fixée à la surface de la cellule diffusible dans le milieu après autolyse	Capable de coaguler en quelque heures le plasma humain ou de lapin citaté, ou oxalatécette enzyme joue un rôle important dans le pouvoir pathogène, en coagulent le plasma auteur des coques et en les protégeant ainsi de la phagocytose Formation de la thrombophlébite suppurée Action directe sur le fibrinogène entrainant l'agglutination des cocci
Catalase	Inhibe la bactéricide intra leucocytaire
Fibrinolycine Substance thermolabile et antigénique	Active le plasminogène, ce qui entraine la dislocation des embolés septiques et la survenue de localisations secondaires
Hyaluronidase Enzyme thermolabile	Hydrolyse de l'acide hyaluronique à PH acide en favorisant la diffusion de germe dans le tissu conjonctif
DNase Nucléase thermostable agie en PH alcalin en présence de Ca++	Hydrolyse d'ADN et d'ARN
Les lipases et les estérases	Peuvent agir sur les graisses sous cutanées

III- *Staphylococcus aureus* et résistance aux antibiotiques

III- 1- Les antibiotiques

III- 1- 1- Définition :

Les antibiotiques sont des substances antibactériennes d'origine naturelle (fabriqué par des champignons ou des bactéries) sort soit d'origine biologique, semi synthétique ou synthétique (29)

III- 1- 2- Classification :

Plusieurs types de classification d'antibiotiques sont envisageables, elles s'appuient sur les critères suivant :(16)

- La structure chimique de base
- Le mode d'action commun
- Le spectre d'activité antibactérienne

III- 1- 3- Modes d'action des antibiotiques :

En fonction de leur nature chimique, les antibiotiques peuvent agir à différents niveaux de la bactérie : la paroi, la membrane, le chromosome, et le ribosome, selon la zone d'atteinte, la bactérie est soit tuée, soit devenue incapable de se multiplier (28)

Tableau V: Modes d'action des antibiotiques (42)

Familles	Antibiotiques	Mode d'action
Bêta-lactamines	Ampicilline Amoxilline +Ac.clavulamique Oxacilline Céfalexine Céfazoline Céfoxitine Pénicilline Ticarcilline Pipéracilline Céftazidime	Inhibent la biosynthèse des peptidoglycanes de la paroi bactérienne
Aminosides	Kanamycine Gentamicine Tobramycine	Inhibent la traduction de l'ARN (synthèse protéique)
Tétracyclines	Tétracycline	Inhibe la traduction
Macrolides	Erythromysine Clindamycine Pristinamycine	Inhibe la synthèse protéique
Nitrofurans	Nitrofurances	Bloquant la réplication de l'ADN
Divers	Rifampicine Acide fusidique Vancomycine	Bloquent la transcription (synthèse de l'ARN)

III- 2- La Résistance bactérienne aux antibiotiques

III- 2- 1- Historique de la résistance :

Le 12 février 1941, le premier traitement par la pénicilline G fut institué chez un policier d'oxford présentant une infection disséminée à staphylocoque, malheureusement la pénicilline ne fut plus disponible après cinq jours et le patient ne fut pas sauvé, par contre, la même année, dix autres patients purent être traités avec succès

En 1945, Kirby montra que sept souches de Staphylocoque doré résistantes à la pénicilline et isolées de malades, inactivaient la pénicilline, les malades n'avaient pas reçu de pénicilline, mais aucune information épidémiologique n'était mentionnée, la pénicillinase prenait place sur la scène de la thérapeutique (77)

Aujourd'hui, entre 70 et 90% des souches de *S. aureus* sont en effet résistantes à la pénicilline (61)

Tableau VI: Histoire de la résistance du *S.aureus* aux antibiotiques (61)

1942	Découverte de la pénicilline Premières souches de <i>S.aureus</i> résistantes à la pénicilline
Années 50	Augmentation de la proportion des souches de <i>S.aureus</i> résistantes à la pénicilline
1956	Découverte de la vancomycine
1958	La vancomycine est approuvée par la FDA et introduit en clinique
Année 60	Introduction des pénicillines anti-staphylococciques (familles de la méticilline) Émergence des souches de <i>S.aureus</i> résistantes à la méticilline La vancomycine est réservée aux cas d'urgence aux bêta-lactamines
Années 70	Augmentation de la proportion des souches de MRSA Augmentation de l'utilisation de vancomycine
1977	Traitement de la colite à <i>Clostridium difficile</i> par vancomycine par voie orale
Année 80	MRSA endémiques dans la plupart des hôpitaux Utilisation élargie de la vancomycine, y compris en prophylaxie chirurgicale dans les hôpitaux à forte endémicité pour MRSA Introduction et utilisation rapidement large de la teicoplanine
1986	La vancomycine hautement purifiée est disponible, rendant son utilisation plus aisée et mieux supportée
1987	Documentation des premiers cas d'infection à staphylocoque à coagulase négatifs résistants aux glycopeptides
1988	Émergence des entérocoques résistants aux glycopeptides
1996	Premier cas d'infection à VISA
1997-1999	Rapports de cas d'infection sévères à MRSA acquises dans la communauté Plusieurs cas rapportés et épidémies d'infection à VISA /GISA au sein de quatre continents au moins

III- 2- 2- Définition de la résistance bactérienne :

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration en antibiotique significativement plus élevée que celle habituellement active sur les souches de cette espèce, en bactériologie médicale ; la définition de la résistance bactérienne à un antibiotique prend également en considération la pharmacocinétique de l'antibiotique : une souche est considérée résistante à un antibiotique quand la CMI de celui-ci est supérieure à la concentration sanguine maximale d'antibiotique obtenue lors de traitement (49)

III- 2- 3- Les types de résistance bactérienne :

III- 2- 3- 1- La résistance naturelle :

C'est une insensibilité aux antibiotiques existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne, elle fait partie du patrimoine génétique normal du germe (49)

III- 2- 3- 2- La résistance acquise :

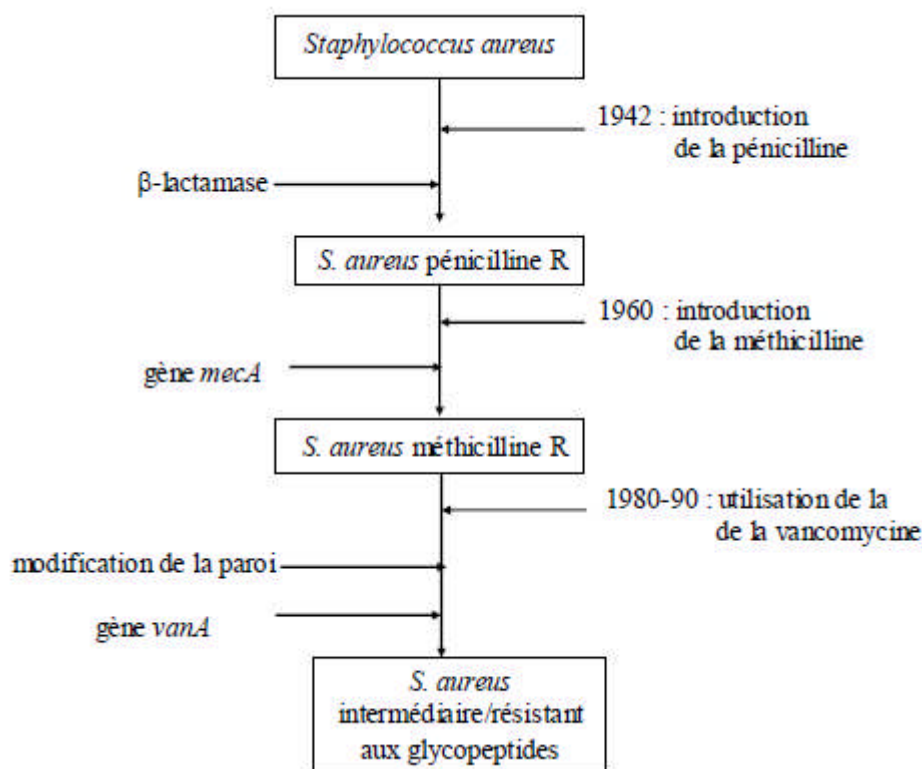
Un germe sensible, à un antibiotique donné peut au bout d'un certain temps ; devenir résistant à cet antibiotique, sous l'action de facteurs génétiques situés soit au niveau des chromosomes bactériens soit en dehors de ceux-ci (49)

III- 2- 3- 2- 1- Résistance Chromosomique due à des mutations :

Elle survient suite à une mutation, entraînant généralement une modification de structures bactériennes, cette modification consiste en une synthèse inefficace dans le transport, rendant la bactérie imperméable à l'antibiotique (69)

III- 2- 3- 2- 2- Résistance Par acquisition des gènes :

C'est le mécanisme le plus fréquent, les gènes acquis par la bactérie peuvent être portés par un plasmide ou un transposon, ces éléments génétiques rendent la bactérie résistante à l'antibiotique par la synthèse de nouvelles protéines (69)

Figure04 : Utilisation des antibiotiques et acquisition des résistances par *S.aureus* (38)III- 2- Mécanismes de résistance de *S.aureus* aux antibiotiques :Tableau VII: Mécanismes de résistance de *S.aureus* et prévalence des résistances aux antibiotiques

Antibiotiques	Mécanismes de résistance	Gènes impliqués	Résistance
B-lactamines	Production d'une B-lactamase	Codant B-lactamases (A à D)	95%
Méticilline	Diminution d'affinité d'une PLP de la membrane cytoplasmique de souches hospitalier de <i>S.aureus</i>	<i>Mec A</i>	23.4%
Erythromycine	Augmentation de la protection des ribosomes	<i>Erm A, B, C</i>	22.5%
Tétracycline	Afflux augmentation de la protection des ribosomes	<i>tetK et L</i> <i>tetM et O</i>	11.3%
Acide fusidique	Augmentation de la protection des ribosomes Diminution de la perméabilité intra bactérienne	<i>Fus A</i> <i>Fus B</i>	2.3%
Quinolones	Inhibition de la synthèse d'ADN efflux	Mutation de <i>gyr A</i> et mutation de <i>parc C</i> et <i>nor A</i>	23.1%

III- 2- 1- Résistance aux bêta-lactamines :**➤ Résistance à la pénicilline :**

Le mécanisme de résistance à la pénicilline repose sur la synthèse par la bactérie d'une enzyme appelée B-lactamase ou pénicillinase qui hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines et les rend inactives. (52)

Le gène *blaZ* qui code pour cette enzyme est porté par un plasmide ou un transposon. Le gène *blaZ* est sous le contrôle d'un système répresseur/antirépresseur (*blaR1/blaI*). La production de β -lactamase est le plus souvent inductible (52).

La sécrétion de pénicillinases est présente chez 70 à 90% des *S. aureus*, les pénicillines associées à un inhibiteur de pénicillinase (acide clavulanique, sulbactam, ou tazobactam) ou les bêta-lactamines insensibles aux pénicillinases (céphalosporines, imipenem) restent actives. (48)

➤ Résistance à la méticilline:

La résistance à l'oxacilline (ou résistance à la méticilline) traduit la présence d'une cible des β -lactamines nouvelle et insensible à ces antibiotiques, la protéine de liaison aux pénicillines PLP2a, codée par le gène *mecA*. La notion de résistance d'expression homogène ou hétérogène est une constatation faite in vitro, selon que toutes les colonies de la population du staphylocoque ou une partie seulement d'entre elles expriment le phénomène de résistance, dans les conditions de la culture. Elle n'a pas de conséquences cliniques majeures. In vivo, l'expression des deux types de résistance est patente. La résistance à la méticilline est croisée vis-à-vis des autres β -lactamines. (48)

La résistance à la méticilline est liée à l'acquisition d'une PLP 2' supplémentaire, protéine de liaison à la pénicilline de faible affinité, qui entraîne une résistance intrinsèque à toutes les bêta-lactamines. La caractéristique de la résistance à la pénicilline est son expression hétérogène, propriété spécifique de souche, dépendante de la phase de croissance et pouvant être modulée par des facteurs externes (12)

Mécanisme de Résistance :

Les premières souches cliniques de *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM) sont observées. Cette résistance est liée à la synthèse d'une protéine de liaison à la pénicilline, la PLP2a, qui entraîne une résistance à l'ensemble des β -lactamines disponibles en 2010. PLP2a est une peptidoglycane-transpeptidase qui n'a qu'une faible affinité pour les β -lactamines et permet la poursuite de la synthèse de la paroi bactérienne, même lorsque les quatre PLP classiques (1, 2, 3 et 4) sont inactivées par les β -lactamines. La synthèse de cette PLP2a est sous le contrôle du gène *mec*, localisé sur un élément génétique mobile chromosomique, appelé *Staphylococcal cassette chromosome mec*, ou SCC*mec* (74)

Caractéristiques des souches MRSA :

Les caractéristiques générales d'un SARM sont: premièrement, d'appartenir à l'espèce *S. aureus*; deuxièmement, d'être résistant à la méticilline et à d'autres pénicillines anti-

staphylocoques semi-synthétiques (exemple, oxacilline, dicloxacilline et nafcilline); et troisièmement, d'avoir acquis le gène de résistance *mecA* (17)

Le gène *mecA* code pour une protéine de liaison modifiée ayant une basse affinité avec la pénicilline (PBP 2a; penicillin-binding protein). Il confère une résistance à la plupart des antibiotiques β -lactamines (17). Les β -lactamines agissent en inhibant l'action des enzymes associées à la synthèse du peptidoglycane et en inhibant ainsi la formation des parois des cellules bactériennes (32)

III- 2- 2- Résistance aux glycopeptides :

Les glycopeptides ne sont pas des bons antibiotiques qui malgré leur activité sur les souches multirésistantes présentent plusieurs défauts. Leurs CMI sont élevées (1 à 2 mg•L⁻¹), leur vitesse de bactéricide est lente (48 heures), leur diffusion intracellulaire et tissulaire est faible. (48)

Différents termes et acronymes, VISA, GISA, hétéro-VISA, ont été utilisés pour définir les souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides et plus récemment VRSA pour les souches résistantes.

➤ Souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides :

Ces souches ont une paroi épaissie résultant d'une réorganisation complexe du métabolisme du peptidoglycane liée probablement à des mutations dans de multiples gènes. Ces réorganisations pourraient empêcher l'accès de la vancomycine à sa cible. Une autre hypothèse non exclusive serait l'hyperproduction de précurseurs du peptidoglycane agissant comme autant de leurres pour les glycopeptides

Les souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides sont isolées à des fréquences faibles dans le monde entier et se recrutent essentiellement parmi les SARM. (20)

VISA et GISA

Les termes de VISA (vancomycin intermediate *S. aureus*) et de GISA (glycopeptide intermediate *S. aureus*) regroupent des souches intermédiaires (CMI = 8 mg/L) ou résistantes (CMI > 8 mg/L) à la teicoplanine et sensibles (CMI ≤ 4 mg/L) ou intermédiaires (CMI = 8 mg/L) à la vancomycine. Le terme de GISA est préférable car il englobe l'ensemble des souches de sensibilité diminuée à l'un ou l'autre des glycopeptides.

Hétéro-VISA

Ces souches de *S. aureus*, initialement isolées au Japon, sont sensibles à la vancomycine (CMI 2-4 mg/L) mais présentent des sous-populations intermédiaires à la vancomycine (CMI 6-8 mg/L). Les sous-populations sont présentes à des fréquences faibles, de l'ordre de 10⁵ à 10⁷ et ne peuvent être mises en évidence à l'antibiogramme standard.

Ces souches sont pour leur grande majorité intermédiaire à la teicoplanine (CMI 8 mg/L), voire résistantes. La définition des souches hétéro-VISA souffre de l'absence d'une technique génétique servant de référence. De plus, leur signification clinique est discutée. Cependant, beaucoup considèrent que les souches hétéro-VISA constituent le réservoir des souches GISA, l'ensemble ne constituant qu'un continuum de souches de diverses sensibilités aux glycopeptides.

➤ **VRSA :**

Plus récemment, de rares souches de *S. aureus* résistantes à la vancomycine et à la teicoplanine (CMI de la vancomycine > 16 mg/L) ayant acquis l'opéron de résistance à la vancomycine *vanA* ont été rapportées aux États-Unis. L'opéron *vanA* porté par des plasmides provient de souches d'entérocoques résistantes aux glycopeptides. (20)

III- 2- 3- Résistance aux aminosides :

L'utilisation de l'aminoside répond au souhait d'obtenir une synergie bactéricide avec un inhibiteur de la paroi bactérienne (glycopeptide ou bêta-lactamine). Il existe trois types d'enzymes de résistance, chacune d'entre elles conférant un phénotype de résistance spécifique aux aminosides

Tableau VIII: Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistances (48,67)

Phénotype	Enzyme	Conséquence pour la synergie avec les inhibiteurs de paroi
Kanamycine (K)	Aminosidephosphotransférase	Pas de synergie avec amikacine
Kanamycinetobramycine (KT)	Aminoside nucléotidyltransférase	Pas de synergie avec amikacine-tobramycine
Kanamycinetobramycine-gentamicine (KTG)	Aminoside acétyltransférase	Pas de synergie avec gentamycine, tobramycine, amikacine, nétilmicine

III- 2- 4- Résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramines (MLS) :

Les macrolides, lincosamides et streptogramines inhibent la synthèse protéique en stimulant la dissociation entre ribosomes et l'ARN de transfert(53)

Le mode le plus fréquent des résistances aux MLS résulte de la production d'une enzyme d'origine plasmidique qui modifie la cible ribosomale, la résistance est croisée entre les macrolides, les lincosamides et les streptogramines B d'où son nom de MLSB car ces antibiotiques ont des sites de fixation communs

La résistance MLSB est soit inducible (souches résistantes à tous les macrolides et aux lincosamides) ou constitutive (les souches sont résistantes à certains macrolides mais restent sensibles aux autres)(48)

Tableau IX: Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistances acquises aux macrolides et apparentés (67)

Mécanisme	Support génétique	Rôle	C14/ C15	C16	Lin	SegB	segA	syn
Modification de cible	<i>ermC</i> (ind)	Méthylase	R	S	S	S	S	S
	<i>ermA</i> (const)	Méthylase	R	R	R	R	S	S/I
Inactivation	<i>linA</i>	acétylase	S	S	R	S	S	S
	<i>Vat</i>	Acétylase	S	S	S	S	R	I/R
	<i>Vgb</i>	hydrolase	S	S	S	R	S	R
Efflux	<i>Vga</i>	pompe	S	S	S	S	R	I/R
	<i>Mef</i>	pompe	R	S	S	S	S	S
	<i>Msr</i>	pompe	R	S	S	R	S	S/I

C14/C15: macrolides à 14 ou 15 de C (érythromycine, azithromycine); **C16**: macrolides à 16 atomes de C (spiramycine); **lin** : lincosamides (Clindamycine); **SgB**: streptogramine B; **SgA**: streptogramine A; **syn**: synergistines (pristinamycine, quinupristine-dalfopristine); **S**: Sensible; **I**: Intermédiaire; **R**: Résistant; **ind**: inductible; **const**: constitutif.

III- 2- 5- Autres résistances :

- **BORSA (Borderlineoxacillin résistant *Staphylococcus aureus*)**: ces souches montrent une activité diminuée de l'oxacilline (ou une résistance de bas niveau) non due à la présence du gène *mecA*. elles ont une CMI de l'oxacilline égale à 2mg/L (sensible mais limite). cette diminution est liée à l'hyperproduction de pénicillinase touchant l'oxacilline. (68)
- **MODSA (Modified *Staphylococcus aureus*)** ou résistance par modification des PLP : la modification des PLP normalement présentes chez *S.aureus* (surtout la PLP4) entraîne des CMI « borderline » ou limites de l'oxacilline. Les recherches de la PLP2a ou de gène *mecA* sont négatives. Pour confirmer une souche MODSA, réaliser un antibiogramme avec un disque d'imipenème (PLP1), de cefotaxime (PLP2), d'oxacilline (PLP3) et de céfoxitine (PLP4). Des discordances entre les différents disques sont observées : la souche étant résistante aux uns et pas aux autres. (68)

III- 2- 5- 1- Résistance aux quinolones :

Les staphylocoques sont naturellement résistants aux quinolones de première génération, mais sont en revanche sensible aux fluoroquinolones

Trois mécanismes de résistances ont été écrits :

1. une modification de la cible mettant en jeu la topo-isomérase 5 par mutation des gènes chromosomiques ou les sous-unités de la gyrase, impliquées dans la synthèse de l'ADN bactérien par une mutation au sein des gènes
2. une hyperproduction d'un système d'efflux grâce à une protéine transmembranaire codée par un gène chromosomique (20)

La résistance est croisée entre les divers fluoroquinolones (preffoxacine, oflaxacine, ciprofloxacine, lévofloxacine) (48)

3. défauts de pénétration de la paroi bactérienne

III- 2- 5- 2- Résistance aux l'acide fusidique :

L'acide fusidique, représentant unique de sa famille, inhibe la synthèse protéique en interférant avec une GTPase (facteur d'élongation G (EF-G)), empêchant la progression de la chaîne polypeptidique au niveau du ribosome.

L'acide fusidique est bactéricide et inhibe la synthèse protéique bactérienne. (55)

Il existe deux mécanismes de résistance à cet antibiotique chez *S. aureus* : mutation dans le gène *fusA* codant le facteur d'élongation G ou diminution de la perméabilité. Les mutants pour le premier type de résistance sont obtenus à une fréquence élevée, de l'ordre de 10^6 à 10^8 (20)

III- 2- 5- 3- Résistance aux Rifampicines :

La rifampicine inhibe l'ARN polymérase, bloquant ainsi la transcription. Elle est bactéricide. Des mutations au sein du gène *rpoB* codant la chaîne bêta de l'ARN polymérase sont responsables du phénotype de résistance à cet antibiotique.

La plupart des souches présentent un haut niveau de résistance (CMI > 32 mg/L), d'autres sont catégorisées intermédiaires (CMI = 1 mg/L). Ces deux types présentent des mutations différentes. (20)

III- 2- 5- 4- Résistance aux sulfamides et triméthoprime :

Les acides foliques sont impliqués dans la synthèse des acides nucléiques. En raison de leur activité anti-folique, les sulfamides et le triméthoprime interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques et des protéines. L'association de ces deux molécules est synergique. Cette synergie est maintenue en cas de résistance isolée aux sulfamides, mais pas en cas de résistance isolée au triméthoprime.

Chez *S. aureus*, la résistance aux sulfamides est fréquente (30 à 50 % des souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline et 80 à 95 % des SARM), souvent par modification de la cible. La résistance au triméthoprime est elle aussi due à une modification de la cible. (20)

III- 2- 5- 5- Résistance aux tétracyclines :

Leur cible ribosomiales est le site A situé sur la sous unité 50 et aussi la sous unité 30 S avec laquelle elles contractent des liaisons leur fixation provoque une diminution de flexibilité du ribosome ce qui empêché la fixation de l'aminocétyl T-ARN et entraîne un blocage de la synthèse protéique, leur action n'est que bactériostatique la présence d'autre cibles est possible au niveau de la membrane (62)

IV. Traitement des infections a *S.aureus* et prophylaxie :

A- Traitement :

Les antibiotiques ont modifié le pronostic des infections graves comme la staphylococcie maligne de la face, les infections systémiques à staphylocoques. Que ce soit à *S. aureus* ou *S. epidermidis*, elles doivent être traitées par une antibiothérapie bactéricide (05).

Le choix de l'antibiothérapie sera guidé en milieu hospitalier par l'antibiogramme qui est indispensable étant donné la fréquence d'isolement des souches multirésistantes, ainsi que par le contexte clinique (14, 27, 58).

Pour les infections graves, les pénicillines insensibles aux pénicillinases sont utilisées, comme l'oxacilline, la cloxacilline, la flucoxacilline et les céphalosporines de première et deuxième génération comme la céfalotine, la céfalexine et la céfuroxime(72)

Un pourcentage important de souches isolées en milieu hospitalier dans le monde entier sont résistantes à toutes les β -lactamines (souches méti R) et sont de règle multirésistantes. Ces souches doivent être traitées par les glycopeptides qui restent fréquemment actifs, mais sont aussi plus lentement bactéricides et plus coûteux. L'érythromycine et les nouveaux macrolides sont employés dans les infections peu sévères (05,72)

La vancomycine, découverte au début des années 1960, reste le traitement de première intention des infections sévères à SARM, malgré ses défauts : (i) une bactéricide lente ; (ii) un index thérapeutique étroit ; (iii) une moindre efficacité lorsque les CMI dépassent 1 mg/L, ce qui représente une proportion croissante des souches dans certains centres.(40)

B- Prophylaxie :

La prophylaxie est à la fois importante et difficile dans les hôpitaux, dans la mesure où le staphylocoque peut survivre des mois dans les poubelles, les rideaux et le linge de maison et où le portage humain est souvent permanent (72).

L'antibioprophylaxie, rarement utilisée comme moyen de prévention, doit être exceptionnelle et réservée à des cas particuliers (chirurgie cardiaque et orthopédique), telles les suppurations localisées qui peuvent parfois nécessiter un geste chirurgical (19, 27)

Ainsi, la prévention des infections nosocomiales repose sur l'application des mesures d'asepsie rigoureuses et un strict respect d'hygiène individuelle (traitement des lésions pouvant représenter une porte d'entrée à des infections plus graves) et collective (lutte contre l'infection dans les hôpitaux, surveillance des cuisines) (19, 27,58).

V. Les différents types des infections à *S.aureus* :

Des infections alimentaires, ce sont les substances toxiques appelées entérotoxines qui, libérées par les souches se multipliant dans les aliments, déclenchent les symptômes : vomissements violents et répétés, souvent accompagnés de diarrhées. Le malade guérit généralement en un à deux jours sans séquelles.

Les infections cutanées provoquées par le *staphylococcus aureus* peuvent prendre de multiples formes : furoncles, folliculites, panaris, impétigo, abcès mammaires chez les femmes qui allaitent. Les infections des muqueuses sont également fréquentes et peuvent atteindre les yeux (conjonctivites), les oreilles (otites), la sphère génitale (endométrite, salpingite) ou les voies respiratoires (pneumonies, pleurésies).

Toutes ces infections cutanéomuqueuses sont susceptibles de se compliquer et d'aboutir à des septicémies. L'évolution peut alors être fulminante, aiguë et associée à des localisations secondaires multiples et variées (valves cardiaques, os, articulations, rein, cerveau).

Le choc toxique staphylococcique (rare mais souvent mortel), avec sa forme mineure, la scarlatine staphylococcique, sont dus à des souches productrices de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) ou d'entérotoxines. Le syndrome d'exfoliation généralisée, et sa forme mineure localisée, l'impétigo bulbeux, sont dus à des souches productrices d'exfoliatines. Des anticorps sériques peuvent bloquer l'action de ces toxines hautement immunogènes (super antigènes). (Site 1)

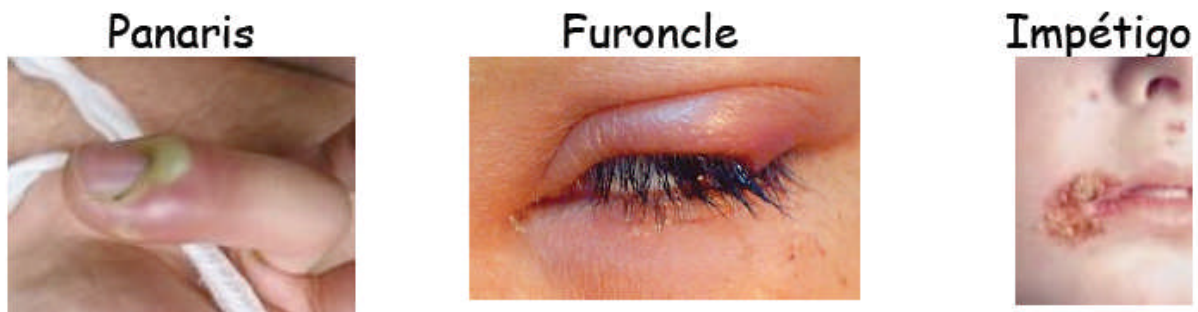


Figure 05: différents aspect cliniques d'infections causées par *S.aureus* (72)

1. Population étudiée

Durant une période s'étalant du 01 Janvier au 30 Juin 2013, 4270 Prélèvements ont été analysés, provenant de sujets externes et hospitalisés dans différents services du CHU de Mustapha Bacha. Alger.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

➤ **Matériel non biologique (Annexe 01)**

➤ **Matériel biologique**

a) **Les prélèvements** : Sur un nombre total de prélèvements effectués (soit 4270) ; 1093 prélèvements analysés se sont révélés positifs.

Les échantillons sont constitués de pus, d'urines, de liquide céphalo rachidien, de sang, de Liquides de ponctions et de matériel de soin, il est à savoir que ces prélèvements sont issus de malades externes et internes (hospitalisés).

Les prélèvements internes proviennent des services médicaux (essentiellement le service de Dermatologie), des urgences médicales et des unités chirurgicales (orthopédie, chirurgie viscérale). Les prélèvements externes quand a eu ont été apportés par des patients non hospitalisés ; prélever par des médecins spécialistes privés.

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement sur laquelle sont mentionnées les informations sur chaque malade (nom, prénom, âge, sexe, service d'hospitalisation, traitement d'antibiotique en cours).

Tableau X: Méthode de réalisation et les conditions de transport des prélèvements

Type de prélèvements	Méthode de réalisation	Condition de transport
Urine	Recueil des urines fraîches du matin au milieu de jet, dans des flacons stériles spéciaux	Immédiatement après leurs réalisations, ou le transporter à 4°C
Pus	Ecouvillonnage à partir du foyer infectieux	Immédiatement après leurs réalisations
Sang	Ponction de sang veineux : trois prélèvements sont réalisés avec intervalle et si possible au moment d'un pic d'hyperthermie ou d'hypothermie. Ceci est mis dans des flacons spéciaux	
LCR	Ponction lombaire	Immédiatement après leurs réalisations
Liquides de ponctions	Réalisé stérilement à l'aide d'une seringue, sans bulle d'air et analysé rapidement.	
Matériel de soin	Nous avons recherché les Staphylocoques à partir de sondes, prélèvements trachéaux, drains et cathéters.	Immédiatement après leurs réalisations

b) Les souches de références

Ces souches sont utilisées pour valider les différents tests effectués, les souches utilisées sont reportées dans le **tableau N° XI**

Tableau XI: Souches de références

Souches	Type de résistance	Références
<i>S.aureus</i>	Sensible à l'oxacilline	ATCC 29213
<i>S.aureus</i>	Résistance à l'oxacilline	ATCC 43300

- c) Le plasma de lapin utilisé pour le test de la coagulase et les anticorps monoclonaux pastorexstaph-plus (bio Mérieux France) pour l'étude sérologique des staphylocoques
 d) Le sang de mouton pour la préparation des géloses au sang frais et cuit.

2.2. Méthodes

I. Étude cyto bactériologique

C'est un examen permettant une analyse cytologique et bactériologique d'un prélèvement biologique, il apporte des informations utiles pour la thérapeutique et présente un intérêt épidémiologique (**figure 06**)

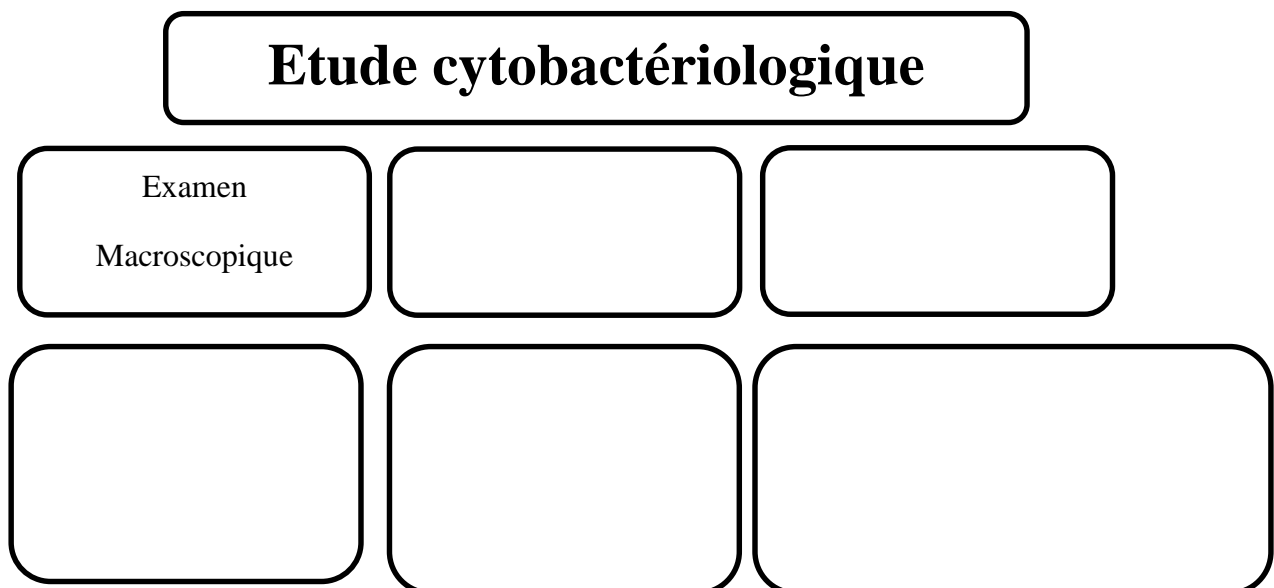


Figure06 : Etape d'une étude cyto bactériologique d'un prélèvement

2.2.1. Examen macroscopique

- **Le sang** : l'examen macroscopique se fait lors de la réception des flacons et durant toute la période d'incubation (10 jours). Il se base sur l'observation des signes tels production de gaz, hémolyse, turbidité, coagulation, dus à la croissance microbienne.

- **Les pus:**une évaluation macroscopique des prélèvements de pus ou d'écoulement recueillis avec des écouvillons, de couleur jaune vert au rouge brun avec une odeur fétide.
- **LCR et liquides de ponctions :**L'aspect macroscopique du LCR est noté dès sa réception. Le LCR normal est clair, classiquement en «eau de roche», mais diverses étiologies entraînent des modifications de cet aspect normal si bien qu'il peut apparaître : hémorragique (sanguant), xanthochromique (jaunâtre), trouble (hypercytose).
- **Matériel de soin :**L'examen microscopique est inutile. Le matériel est mis en culture directement à 37°C pendant 24 heures.

2.2.2. Examen microscopique

Nous oriente sur la morphologie, la mobilité des bactéries vivantes ainsi que sur les différents numérations (polynucléaires, hématies, bactéries, les cristaux, et d'autres cellules), les trois techniques utilisés sont :

➤ **Etat frais :**

Cette méthode permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leurs morphologies, de leurs modes de groupement, de leur mobilité éventuelle et de la quantité approximative des bactéries.

Sur une lame propre, on dépose à l'aide d'une pipette Pasteur une goutte de prélèvement et dans certains cas (prélèvement de pus) on ajoute une goutte d'eau physiologique stérile. On recouvre la lame avec une lamelle et on observe au microscope optique aux grossissements(400 et 1000).

➤ **Numération cellulaire**

C'est la détermination du nombre des cellules continues dans un volume précis de milieu liquide.

Elle est réalisée directement par comptage au microscope à l'aide d'une lame de Malassez , on dépose la lamelle sur les rebords ,celle-ci doit adhérer par un effet ventouse puis on place l'extrémité de la pipette contre la lamelle et délivrer par capillarité le liquide en évitant tout débordementvers les rigoles, par la suit on calcule le nombre par rectangles : on peut compter le nombre de cellules dans 10 carrés (quadrillés), le volume d'un carré quadrillé étant de 0.01 ul , en comptant 10 carrés , il suffit alors de multiplier le résultat par 10 000 pour obtenir le nombre de cellules par ml.

➤ **Coloration au bleu méthylène**

C'est une coloration simple et rapide qui permet d'apprécier la morphologie des bactéries et les détails qui peuvent échapper à l'état frais (présence de spores, de regroupement cellulaires..) sur le plan pratique, cette technique, ne permet pas de différencier les bactéries ayant une même morphologie.

Technique : elle se pratique de la manière suivante :

- Réaliser un frottis, le fixer et le sécher
- Recouvrir par le bleu de méthylène
- Laisser agir 15 minutes
- Laver à l'eau de robinet, puis la sécher
- Ajouter une goutte d'huile d'immersion puis observer au microscope grossissement (1000)

Lecture : toutes les structures apparaissent colorées en bleu (bactéries, polynucléaires).

2.2.3. Examen bactériologique

a. Ensemencement:

- ✓ Selon les prélèvements, les milieux de culture sont variés: GSF, GSC et Chapman.
- ✓ La mise en culture se fait par ensemencement en surface des milieux de culture préalablement coulés dans des boîtes de Pétri.

Technique

- ✓ On dépose une goutte de prélèvement sur un point périphérique des boîtes de Pétri contenant de la gélose.
- ✓ On réalise des isollements avec une pipette boutonnée ou anse de platine en stries serrées selon la méthode des quadrants tout en respectant les précautions d'asepsie.
- ✓ Concernant le pus, l'ensemencement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile dans un premier temps (jusqu'à la moitié de la boîte), puis avec une anse de platine.

b. Incubation:

- ✓ On incube les boîtes à 37°C pendant 24-48h et les boîtes de gélose au sang (GSC, GSF) sous CO₂ à 37°C pendant 24-48h.

C. Milieux de cultures : (aspect macroscopique)

Tableau XII : Différents aspect macroscopique de *S.aureus* aux différents milieux de culture

Sur Chapman	Sur gélose au sang cuit	Sur gélose nutritive
Colonies jaunes, les colonies sont souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune, la plupart des souches de <i>S. aureus</i> fermentent le mannitol et font virer le milieu du rouge au jaune orangé	Sur gélose au sang cuit, en 24 heures, les colonies sont circulaires, volumineuses, opaques éventuellement pigmentées et de couleur jaune doré et légèrement bombées ou aplaties; elles présentent une surface luisante et humide. Les colonies produites sur GSC sont de plus grand diamètre que celui	Sur gélose nutritive, en 24 heures, les colonies sont lisses, les souches <i>S. aureus</i> produisant en général un pigment jaune

des colonies produites sur GN.

➤ **Coloration de Gram**

C'est une coloration doublée, qui permet la distinction entre les bactéries à Gram positif colorées en violet et les bactéries à Gram négatif colorées en rose.

Technique

- ✓ On recouvre le frottis par le cristal violet pendant une minute.
- ✓ On rince à l'eau et on recouvre la préparation par le Lugol pendant une minute.
- ✓ On rince avec l'alcool (décoloration). La durée de cette étape est de 15-30 secondes.
- ✓ On rince à l'eau et on recouvre la lame par la Fushine pendant une minute.
- ✓ On rince à l'eau puis on sèche
- ✓ On ajoute une goutte d'huile à immersion puis on observe au microscope grossissement x1000

Lecture : Les bactéries à Gram + apparaissent en violet par contre les bactéries à Gram – se décolorent par l'alcool et perdent alors la couleur violette ce que leur permet de colorer en rose.

➤ **Identification biochimique**

En plus des caractères morphologique, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques.

a. Recherche de la Catalase**Principe :**

Cette enzyme empêche l'accumulation d'eau oxygénée, dont l'action serait létale pour la cellule bactérienne, par conséquent, certaines bactéries possèdent une enzyme permettent la décomposition de cette eau oxygénée en eau et en oxygène gazeux, catalysant la réaction :

**Technique :**

Sur une lame stérile, déposer une goutte d'eau oxygénée à laquelle on ajoute une colonie isolée prélevé à partir de GSC.

Lecture :

Catalase négative : absence de bulle d'air

Catalase positive : dégagement d'oxygène sous forme de gaz

b. Recherche de la Coagulase

La coagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma de lapin, la mise en évidence de la coagulase chez une souche de staphylocoque permet de l'identifier comme étant un *S.aureus*.

Principe :

Le principe de ce test est de met en contact du plasma de lapin, avec quelques gouttes de bouillon cœur-cervelle (suspension de souche de staphylocoque à étudier) on obtient un caillot au fond de tube

Technique : Dans deux tubes secs, mettre 0.5 ml de plasma de lapin à l'aide d'une micropipette

Premier tube : Souche de référence de *S.aureus* qui sert de témoin positive

Deuxième tube : On dissocie deux à trois colonies bien isolées des souches à tester prélevées à l'aide d'une pipette, incubée à 37°C pendant 18 heures

Lecture : Repose sur la formation ou non d'un caillot, c'est le fibrogène qui a été transformé en fibrine

- ✓ Si le plasma est coagulé (pas d'écoulement) : *S.aureus*
- ✓ Si le plasma n'est pas coagulé : espèce autre que *S.aureus*

c. Recherche de l'oxydase :

Principe :

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.

Cette enzyme est capable d'oxyder un réactif : le N diaméthylparaphénylène diamine.

Technique :

Ecraser avec une pipette Pasteur une colonie de germes à étudier sur un disque pré-imprégné par le réactif.

Lecture :

Oxydase négative : Absence de virage de couleur ; pas de composé rose violet

Oxydase positive : Composé rose violet, noircissant à l'air suit au contact avec le réactif.

d. Agglutination sur particule de latex (pastorexstaphplus)

Principe : Le pastorexstaph-plus est un test rapide d'agglutination qui permet la détection simultanée de la coagulase liée de la protéine A et des polysaccharides capsulaires de *S.aureus*.

Technique :

- ✓ Déposer une goutte de réactif dans un cercle de la carte d'agglutination
- ✓ Déposer une goutte de réactif témoin négatif sur un autre cercle
- ✓ Prélever 1 à 3 colonies Gram positive catalase positive à l'aide d'un bâtonnet en plastique puis émulsionner avec la goutte de réactif
- ✓ Procéder de la même façon pour le réactif témoin négatif
- ✓ Homogénéiser par des mouvements réguliers et circulaires de la carte

Lecture :

- ✓ **Réaction positive :** agglutination visible à l'œil nu
- ✓ **Réaction négative :** pas d'agglutination



Figure 07 : Test d'agglutination pastorex

II. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques**➤ Technique d'antibiogramme**

On réalise à partir de l'isolement (souche pure) un ensemencement en tapis sur le milieu. On dépose ensuite les disques d'antibiotiques et on place à l'incubateur. Au bout de 24 h, on lit les différents diamètres d'inhibition et on peut conclure en comparant ceux-ci aux abaques de lecture.

➤ Test de diffusion (méthode des disques)

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard (NCCLS) est la plus utilisée par les laboratoires de diagnostic. Le milieu utilisé est la gélose Mueller Hinton (MH).

Technique

- ✓ A partir d'une culture pure de 18 heures sur le milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- ✓ Décharger la pipette dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.

- ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland.
- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne puis l'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur 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 boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même puis finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



Figure 08 : Ensemencement par écouvillonnage sur gélose Mueller Hinton

Application des disques d'antibiotiques

- ✓ Six disques d'antibiotiques sont appliqués par boîte, ils sont espacés de 24 mm, centre à centre.
- ✓ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après l'application
- ✓ Les boîtes sont, ensuite, incubées immédiatement pendant 18 heures incubées à 37°C.
- ✓ Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Conditions d'incubations

Respecter la température et la durée d'incubation recommandées

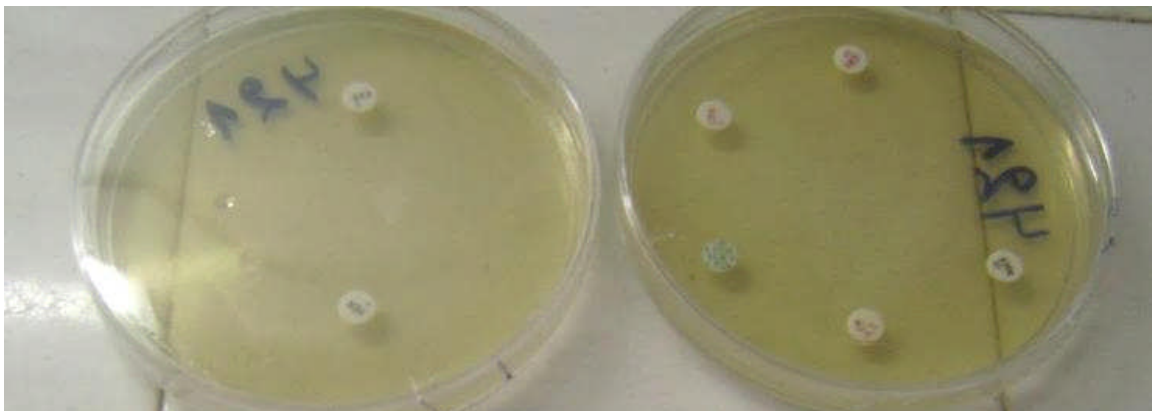


Figure 09 : Disposition des disques d'antibiotiques

Les antibiotiques testés

Un antibiogramme a été réalisé pour chaque souche isolée par la méthode de diffusion sur gélose de Mueller Hinton avec des disques d'antibiotique du laboratoire bioMérieux. L'oxacilline a été testée sur une gélose de Muller Hinton contenant 5% de chlorure de sodium (NaCl). Les résultats ont été interprétés selon les règles et les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Les antibiotiques testés étaient :Pénicilline ,Oxacilline, Céfoxitine ,Gentamycine, ,Kanamycine ,Tobramycine,Tétracycline,Erythromycine,Clindamycine,Pristinamycine,Ciprofloxacin,Levofloxacin,Vancomycine,Rifampicine,Acide Fusidique,Cotrimoxazole.

Ces antibiotiques ainsi que leur signe sont indiqués en **Annexe 03**

Lecture

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse
- ✓ Pour les bactéries testées sur Mueller Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée
- ✓ Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes
- ✓ Classer les bactéries dans l'un des catégories S, R ou I

Sensible (S): Si le diamètre d'inhibition est supérieur au diamètre de la concentration critique inférieure.

Résistante (R): Si le diamètre d'inhibition est inférieur au diamètre de la concentration critique supérieure.

Intermédiaire (I): Si le diamètre d'inhibition est compris entre les deux diamètres des concentrations critiques.

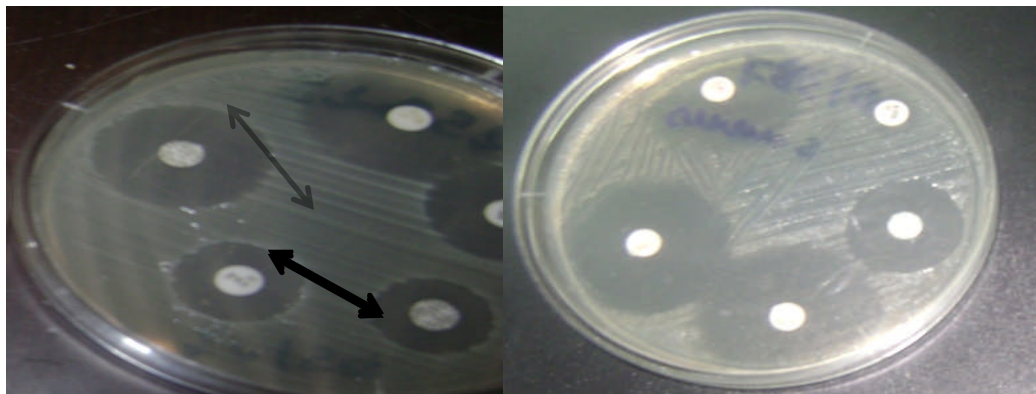


Figure 10: Lecture d'un antibiogramme

➤ **Recherche de la résistance à la méticilline**

La résistance des *S.aureus* à la méticilline (Oxacilline) permet de répartir les souches de *S.aureus* en deux catégories :

- ✓ **SASM (méti-S)** --- Les souches de *S.aureus* sensible à la méticilline
- ✓ **SARM (méti-R)** --- Les souches de *S.aureus* résistant à la méticilline

La détection de la résistance à la méticilline se fait par plusieurs tests :

a. Test de diffusion du disque de céfoxitine (30µg) dans les conditions standards

Il est recommandé de se référer à la céfoxitine pour la détection de la résistance à l'oxacilline car cet antibiotique favorise l'expression de la résistance chez les souches présentent une résistance hétérogène à l'oxacilline

Technique

La résistance de *S.aureus* à la méthicilline est recherchée l'aide d'un disque de cefoxitine (30µg) dans les conditions standards.

Lecture :

La lecture du diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse.

- ✓ Si le diamètre de la cefoxitine est ≤ 21 mm, la souche est dite résistante à l'oxacilline (MRSA)
- ✓ Si le diamètre de la cefoxitine est ≥ 22 mm, la souche est dite sensible à l'oxacilline (MSSA)

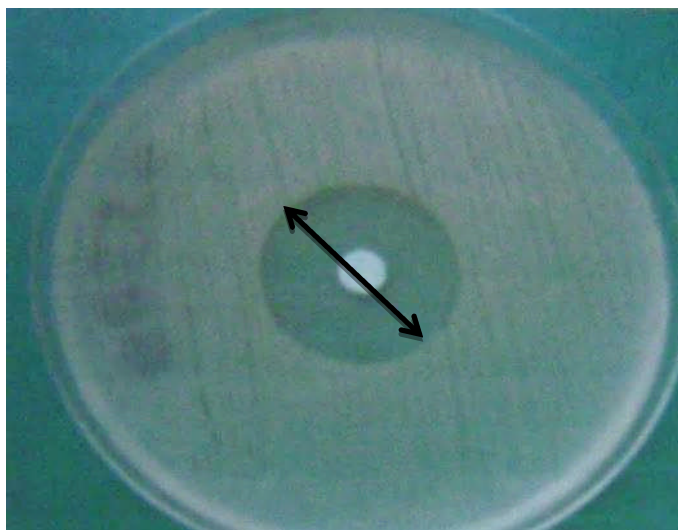


Figure 11 : Test de diffusion du disque de cefoxitine avec un diamètre ≥ 22 mm (MSSA)

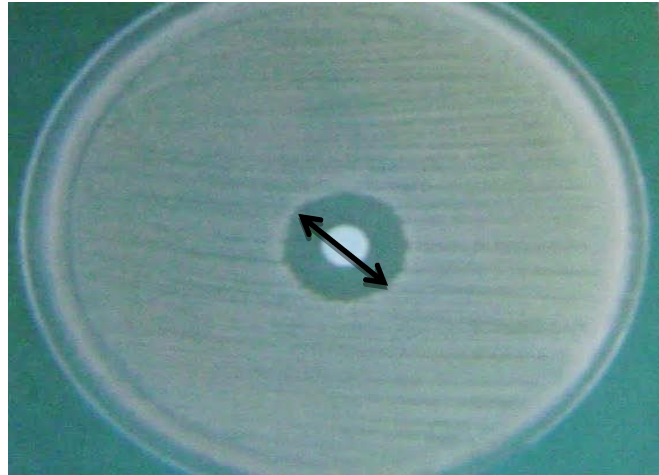


Figure 12 : Test de diffusion du disque de cefoxitine avec un diamètre ≤ 21 mm (MRSA)

b. Test de diffusion du disque d'oxacilline (6ug) incubé à 30°C :

- ✓ La détection de la résistance à l'oxacilline se fait grâce à un disque d'oxacilline sur gélose MuellerHinton simple incubé à 30°C
- ✓ La durée d'incubation est de 48 heures avec une lecture après 24 heures

Lecture :

Les souches présentant un diamètre inférieur à 20 mm ou celles ayant une pousse à l'intérieur du diamètre d'inhibition sont considérées comme résistantes à l'oxacilline, impliquant une résistance à toutes les β -lactamines.

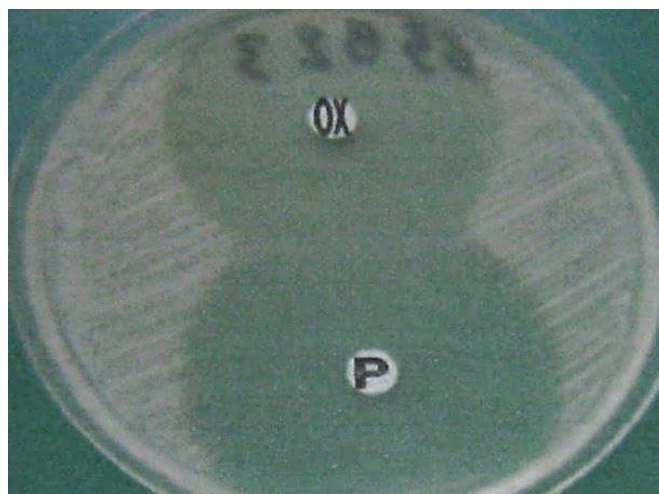


Figure 13 : Test de diffusion de disque d'oxacilline (MSSA)

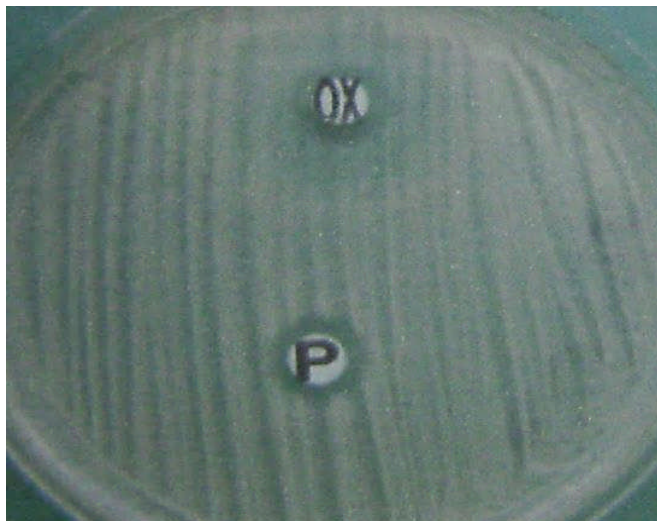


Figure 14 : Test de diffusion de disque d'oxacilline (MRSA)

En pratique, Pour une meilleure détection de la résistance, les disques d'oxacilline (1ug) et de céfoxitine (30ug) doivent être testés simultanément au niveau de l'antibiogramme standard de *S.aureus*

Tableau XIII: Recherche de la résistance à l'oxacilline et l'interprétation des tests (Méthode de diffusion des disques) (68)

	Oxacilline (1Ug)	Céfoxitine (30Ug)	Interprétation
<i>s.aureus</i>	≥13 mm	≥22mm	Souche OXA S
	≤12mm	≤21 mm	Souche OXA R

En cas de discordance entre le disque d'oxacilline et de céfoxitine pour *S.aureus*, en présence d'une infection sévère à SCN, effectuer une des recherches suivantes :

- ✓ Recherche de la PLP2a
- ✓ Ou screening test à l'oxacilline
- ✓ Ou détermination de la CMI de l'oxacilline
- ✓ Ou recherche du gène *MecA*
- **Détection du phénotype MLSb inducible**

Pour la famille des MLS, le test de l'érythromycine, de la clindamycine et de la pristinamycine permet de connaître les phénotypes de résistance et d'interpréter les résultats

Un phénotype MLSb inducible peut être identifié par diffusion en milieu gélosé, En effet lorsqu'un disque d'érythromycine (inductible) est placé à côté d'un disque de Clindamycine, de lincomycine, de spiramycine ou de josamycine (non inductible), un aplatissement de la zone d'inhibition autour du disque contenant l'antibiotique non inducteur est observé en regard du disque d'érythromycine forment une zone en forme de D

La distance entre les disques d'érythromycine et de clindamycine habituellement égale à 24 mm de bord à bord, est généralement suffisante pour observer les interactions

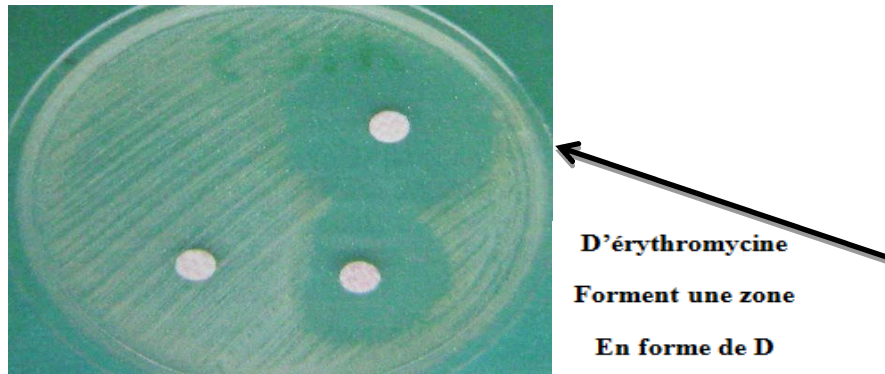


Figure 15 : Détection de la résistance inductible (MLSb inductible) dans l'antibiogramme standard

III. Contrôle de qualité d'antibiogramme

Un contrôle de qualité est pratiqué en moyenne une fois par semaine, dans l'hôpital où nous avons exercé notre travail, dans le but d'assurer la fiabilité de l'antibiogramme pour cela nous avons utilisé la souche de référence **ATCC 25923**, il doit se faire une fois par semaine dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites pour les bactéries testées.

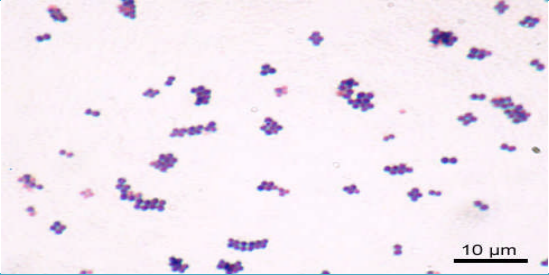



Le diamètre d'inhibition de la souche de référence est comparé avec les valeurs limites des diamètres d'inhibition décrites selon les normes (CLSI) (ClinicalLaboratoryStandards Institut) il doit être en parfaite concordance avec ces normes (**68**)

I. Résultats

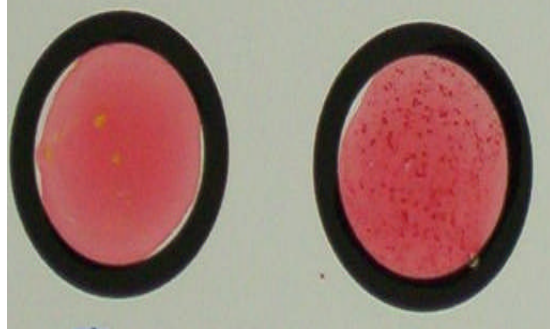
➤ Etude prospective

Les figures correspondent aux résultats de l'identification des *Staphylococcus aureus* ainsi que de la résistance à la méticilline sont présentés dans le tableau ci-dessous

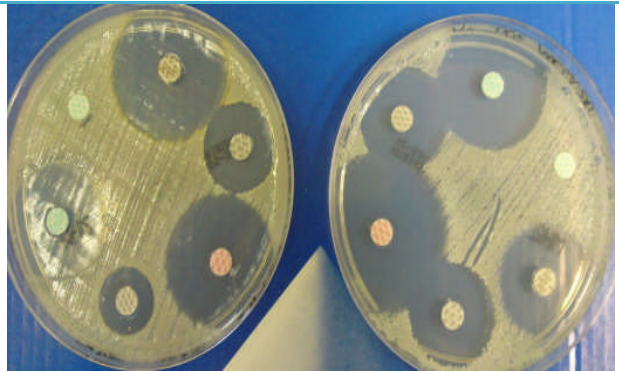
Tableau XIV: Résultats de l'identification de *Staphylococcus aureus* ainsi que de la résistance à la Métiline

Résultats obtenus	Photos
<p>La coloration de Gram : Cocci colorés en violet isolés en amas</p>	
<p>La catalase : Apparition de bulles d'air</p>	
<p>La coagulase : Formation de caillot</p>	
<p>Oxydase : Se traduit par virage de couleur rose-violet</p>	

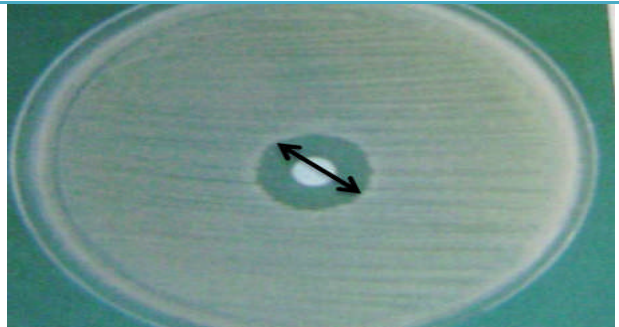
Pastorexstaph plus :
Apparition s'agglutination (proteine A)



Résultats de l'antibiogramme des *Staphylococcus aureus*



Résultats de la diffusion de disque de céfoxitine



Résultats de la diffusion de disque d'oxacilline



1) Répartition globale des prélèvements selon leur nature

Au cours de la période d'étude s'étalant du 01 janvier au 30 juin 2013, **4270** prélèvements ont été effectués au Laboratoire de Microbiologie du CHU de Mustapha Bacha – Alger. Il s'agit d'hémocultures, de pus, de ponctions et de matériel de soins comme le montre le **tableau ci-dessous**

Tableau XV: Répartition des prélèvements selon leur nature

Type de prélèvements	Nombre de prélèvement	Pourcentage %
Sang	922	21.6
Urines	1375	32.2
Pus	454	10.63
Les ponctions	856	20.04
LCR**	540	12.65
Matériel de soins	123	2.9
Total	4270	100

**LCR: Liquide Céphalo-Rachidien

Les examens les plus demandés sont les urines (32.2%), suivies par le sang (21.6%) dont 856 demandes sont pour les diverses ponctions. Le LCR arrive en 4ème position avec plus de 12% suivies par les pus (10.63%) et l'examen du matériel ne constitue que près de 2.9% de la demande (**Figure16**).

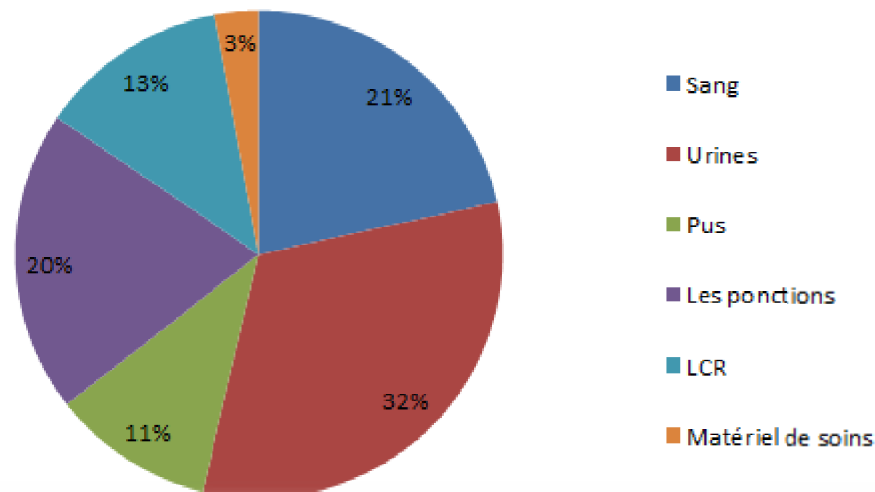


Figure 16: Répartition globale des prélèvements selon leur nature

2) Cultures des prélèvements

Les résultats des cultures des 4270 prélèvements sont présentés sur le **tableau XVI**

Culture	Nombre	Pourcentage %
Positive	1093	25.6
Négative	3034	71.05
Contaminée	143	3.35
Total	4270	100

Tableau XVI: Répartition des prélèvements selon leur culture

Sur 4270 prélèvements analysés, 1093 se sont révélés positifs (développement bactérien), soit un taux de 25% (près du 1/4 des prélèvements), alors que 71% sont négatifs. Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur les différents milieux utilisés, montrent un développement bactérien. Ce taux de positivité est assez élevé, mais il faut noter que l'interprétation des résultats est parfois difficile. En effet, il n'est pas toujours aisé de distinguer entre la simple colonisation ou même la contamination d'une véritable infection, vu le manque d'informations inscrites sur les bons de demandes d'examens.

Nous constatons aussi, que 143 prélèvements se sont révélés contaminés (3%). Cette contamination peut avoir 02 origines; soit au niveau du patient donc au cours du prélèvement lui-même, soit au laboratoire au cours du traitement. Dans les deux situations, la principale cause est le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation de bactéries de l'environnement qui ne sont pas en relation avec l'infection mais qui peuvent contaminer le malade (dans le cas de la contamination chez celui-ci) et provoquer chez lui des infections dites nosocomiales.

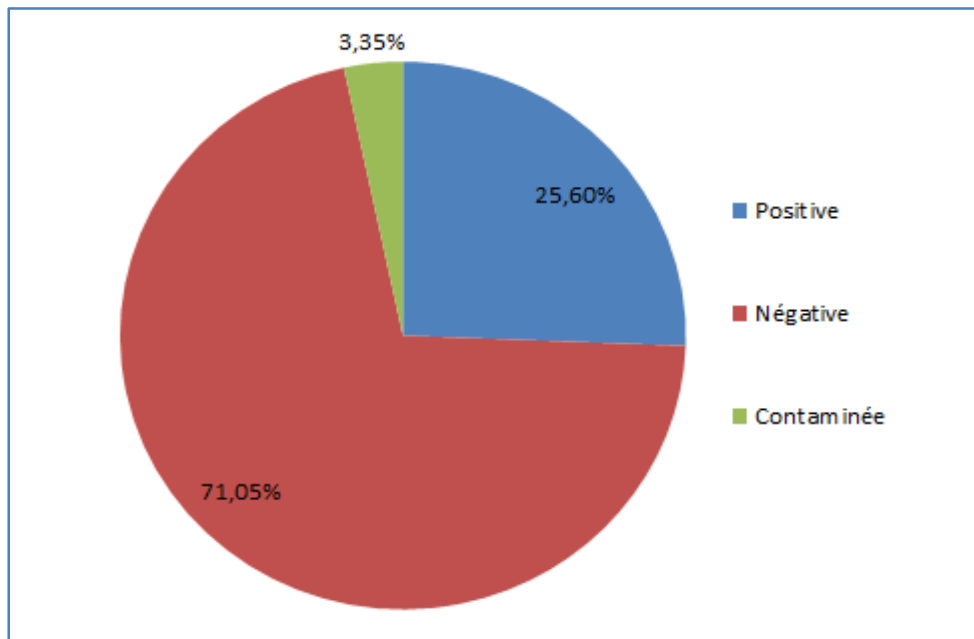


Figure 17: Répartition des prélèvements selon leur culture

CP : Culture Positive, CN : Culture Négative, CC : Culture Contaminée

II. Etude de la répartition des souches bactériennes isolées à partir des prélèvements

a) Taux des Staphylocoques par rapport aux autres germes : est représentée dans le tableau XVII, illustré par la figure ci-dessous

Tableau XVII: Taux des Staphylocoques par rapport aux autres germes

Germes isolés	Nombre	Pourcentage %
Les Staphylocoques	207	18,94
Escherichia	382	34,95
Pseudomonas	115	10,52
Klebsielle	131	11,99
Entérobacter	113	10,34
Proteus	19	1,74
Sarratia	29	2,65
Acinéto bacter	34	3,11
Streptocoques	28	2,56
Morganella	21	1,92
Autres	14	1,28
Total	1093	100%

Les Staphylocoques (*S.aureus* et SCV) sont parmi les germes les plus rencontrés avec un taux de (18.94%) et se classent juste après *E.coli* qui représente 35% de l'ensemble des espèces bactériennes isolés (**Figure18**)

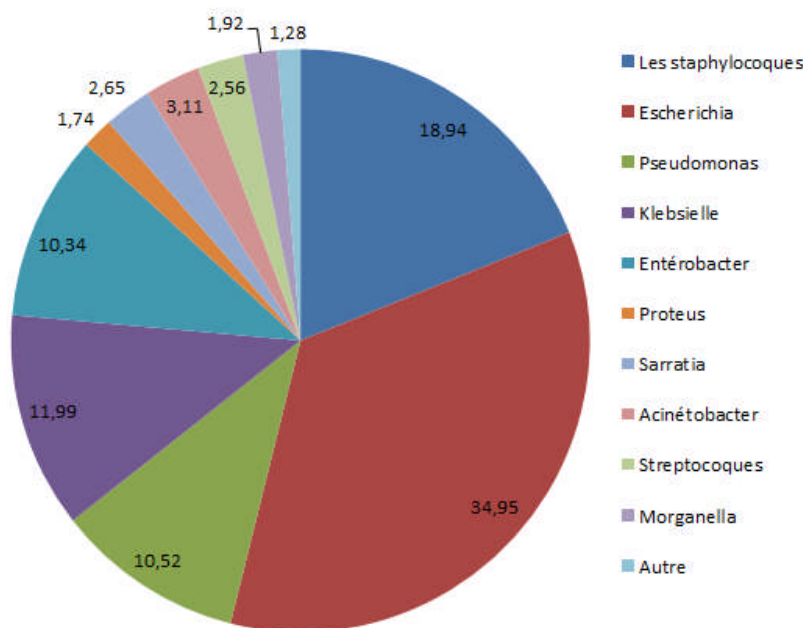


Figure 18: Taux de Staphylocoques par rapport aux autres germes

Sur les 207 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, 109 souches pures non redondantes ont été identifiées comme étant l'espèce *S. aureus* par la mise en évidence de la coagulase libre, ce qui représente un taux de 54,5% sur l'ensemble des souches de Staphylocoques isolées (109/207), 10% sur la totalité des prélèvements qui se sont avérés positifs (109/1093) et 2,55% sur la totalité des prélèvements examinés (109/4270) (Tableau XVIII). Le reste des souches appartient aux espèces à coagulase négative.

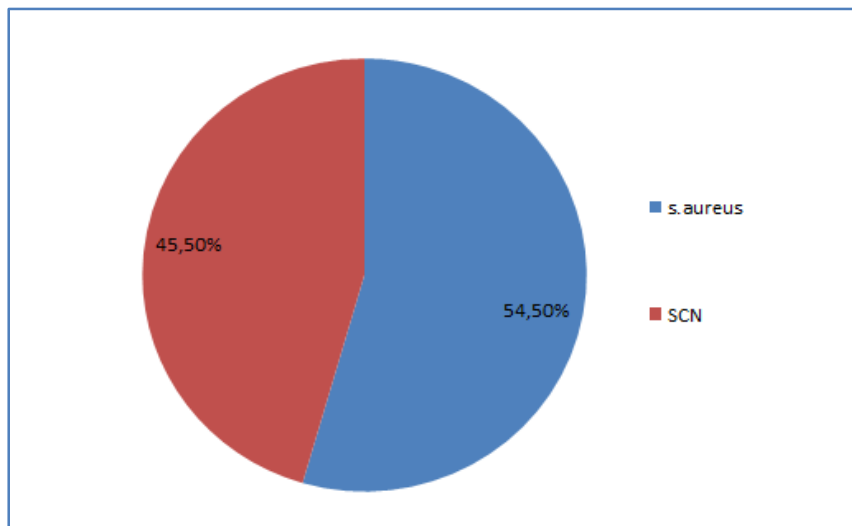
Tableau XVIII: Fréquence d'isolement de *S. aureus*

Pvts	PP	Nombre de souches de staphylocoques	Nombre de souches de <i>S.aureus</i>	% de <i>S.aureus</i> par rapport aux pvts	% de <i>S.aureus</i> par rapport aux CP	% de <i>S.aureus</i> par rapport aux souches de staphylocoques
4270	1093	207	109	2,55%	9,97%	54,5%

b) Taux de *S.aureus* par rapport aux autres Staphylocoques

Tableaux XIX: Répartitions de *S.aureus* par rapport aux autres staphylocoques :

Espèce	Nombre	Pourcentage
<i>S.aureus</i>	109	54,5 %
SCN	98	45,5%
Total	207	100%

Figure 19: Répartitions de *S.aureus* par rapport aux autres staphylocoques

c) **Prévalence des souches de *S.aureus* selon que les patients soit hospitalisés ou externes**

D'après les résultats de cette répartition nous avons constaté que (89,91%) des souches sont d'origine hospitalier et (10,09%) d'origine communautaires

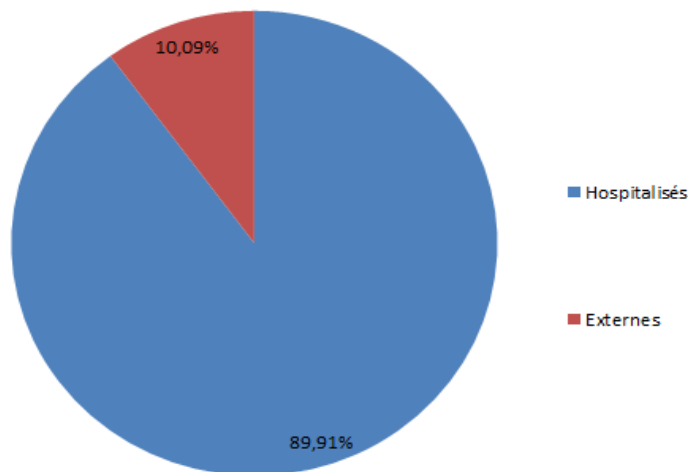


Figure 20 : Répartitions des souches de *S.aureus* selon les patients externes et hospitaliers

d) **Répartition des souches de *S.aureus* selon le sexe, les prélèvements et les services**

✓ **Répartition des souches de *S.aureus* en fonction des prélèvements**

Tableau XX: Répartition des souches de *S. aureus* en fonction des prélèvements

Type de prélèvements	Nombre de prélèvements	Pourcentage %
Sang	07	6,42
Urines	06	5,50
Pus	64	58,72
Les ponctions	25	22,94
LCR	01	0,92
Matériel de soins	06	5,50
Total	109	100

Les souches de *S. aureus* ont été isolées à partir d'une grande variété de prélèvements, principalement les prélèvements de pus, ce qui correspond à une fréquence très élevée (58%). Ainsi, nous constatons que le site préférentiel des infections à *S. aureus* est cutané. Cette fréquence est d'autant plus significative au regard du nombre total des prélèvements de pus, qui ne constitue que près de 11% de la totalité des prélèvements analysés, suivent les ponctions avec un taux de près de 23%. Les *S. aureus* sont isolés dans différents sites et se trouvent dans d'autres prélèvements tels que le sang, les urines et le matériel de soin avec une fréquence faible (**Tableau 21, Figure 21**).

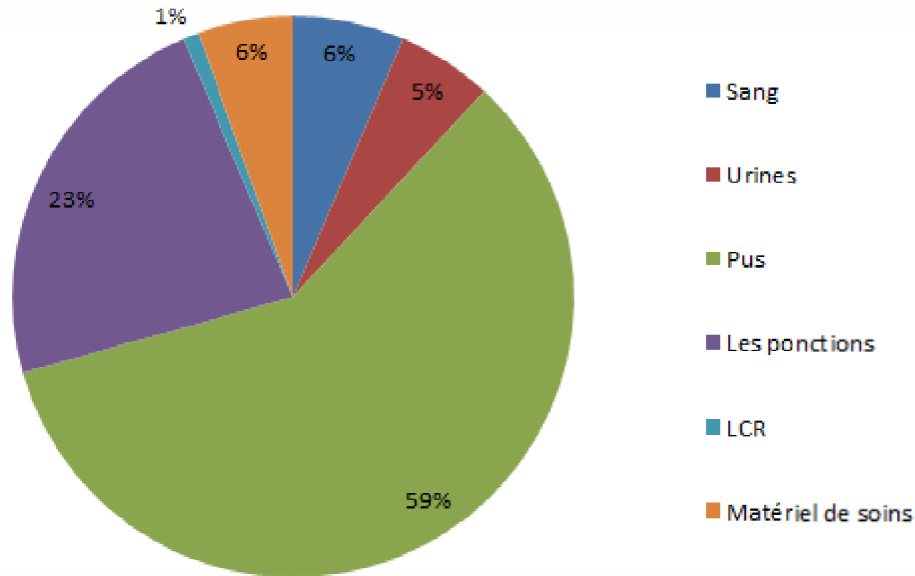


Figure 21: Répartition des souches de *S.aureusen* fonction des prélèvements

✓ Répartition des souches de *S.aureus* selon le sexe

Les 109 souches de *S.aureus* se répartissent en 53 souches (57.61%) chez les hommes et 39 souches (42.93%) chez les femmes. Les hommes sont plus infectés (ou colonisés) que les femmes par le *S. aureus*. Nous ne pouvons pas expliquer cette prédominance.

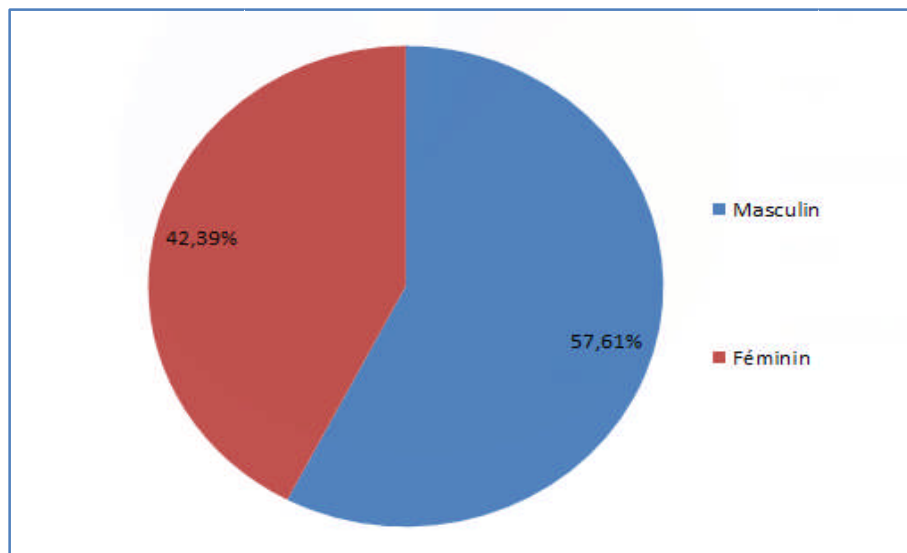


Figure 22: Répartition des souches de *S.aureus* selon le sexe

c. Répartition des souches de *S. aureus* selon l'âge :

La figure 23 montre que la tranche d'âge la plus touchée est supérieure à 45 ans soit un taux de (45.45%) suivi par la tranche 30-45 ans (19.70%) dont (18.18%) pour la tranche 2 à 15 ans

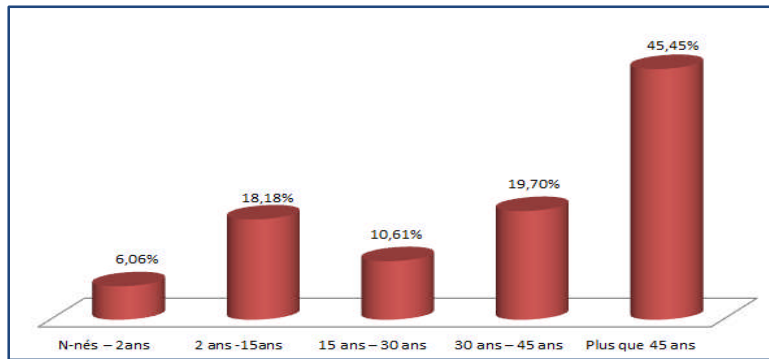


Figure 23 : Répartition des souches de *S.aureus* selon l'âge

✓ Répartition des souches de *S.aureus* selon les services

Les patients ayant développé de infections nosocomiales à *S.aureus* étaient hospitalisés dans différents services à l'hôpital, la fréquence d'isolement de *S.aureus* dans ces services est illustrée dans le **tableau XXI**

Tableau XXI: Répartition des souches de *S.aureus* isolées en fonction des services

Services	de	Nombre de <i>S.aureus</i>	% de <i>S.aureus</i>	% globale
Services de médecine	Dermatologie	25	22,94	55,95
	Diabétologie	7	6,42	
	Cardiologie	6	5,50	
	Pédiatrie	4	3,67	
	Médecine interne	4	3,67	
	Pneumologie	2	1,83	
	Gynécologie	1	0,92	
	Urgence	3	2,75	
	Gastrologie	3	2,75	
	ORL	3	2,75	
	Autre services	3	2,75	
Services de réanimation		9	8,26	8,26
Services de chirurgie	Orthopédie	13	11,93	25,7
	Chirurgie infantile	5	4,59	
	Chirurgie général	1	0,92	
	Chirurgie thoracique	5	4,59	
	Neurochirurgie	4	3,67	
Externe		11	10,09	10,09
Totale		109	100%	100%

Le **tableau XXI** et la **figure 24**, montrent que la majorité des prélèvements positifs à *S.aureus* sont faits chez des patients hospitalisés, provenant principalement des services

médicaux (essentiellement le service de Dermatologie), des urgences médicales et des unités chirurgicales (orthopédie, chirurgie viscérale).

S.aureus est isolé à partir de la quasi-totalité des services de l'hôpital avec des proportions égales: le service le plus touché est celui de la dermatologie avec 25 % souches (23%) suivi de service d'orthopédie avec 13 souches (12%), ces deux services représentent à eux seuls presque la moitié des souches (37%)

Selon les services, ceux de la médecine sont plus touchés (56%) suivis des services chirurgicaux (26%) et enfin les services de réanimation (8.26%)

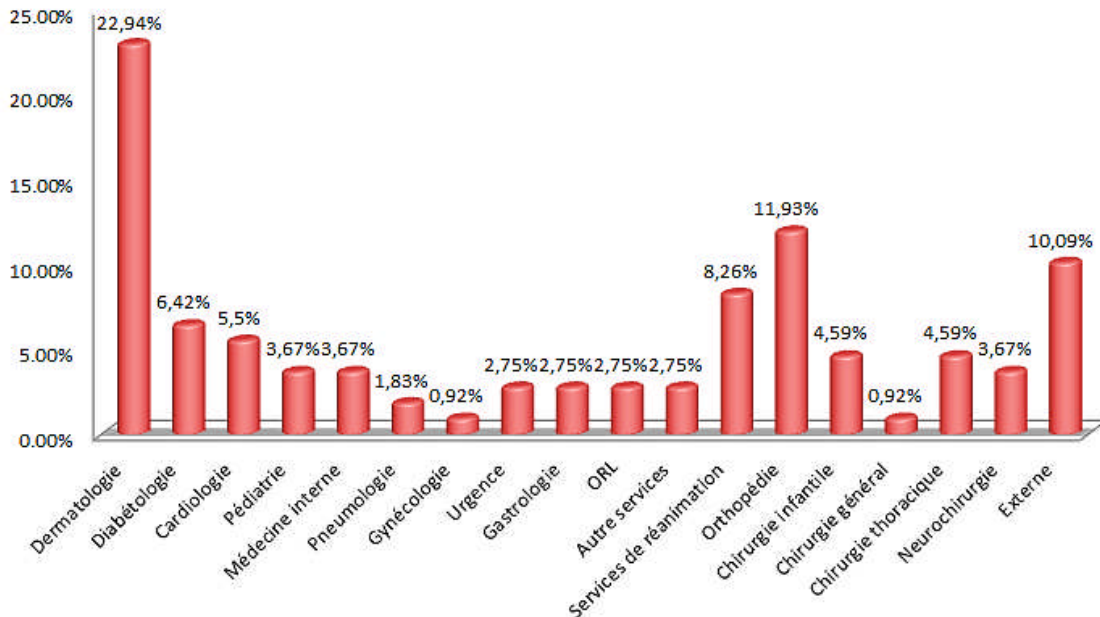


Figure 24: Répartition des souches de *S.aureus* en fonction des services

✓ Répartition des patients selon la pathologie :

Les pathologies dans lesquelles était impliqué *S.aureus* ont été regroupées dans des pathologies standardisées .ces pathologies sont représentées dans la figure 25

Les infections due à *S.aureus* sont très polymorphes mais elles sont largement dominées par les infections cutanées (53.21%). on note une fréquence assez importante par les infections ostéo articulaires et des pneumopathies avec respectivement (13.76%) (9.17%) (7.34%).une faible fréquence est observée pour les méningites nosocomiales (0.92%)

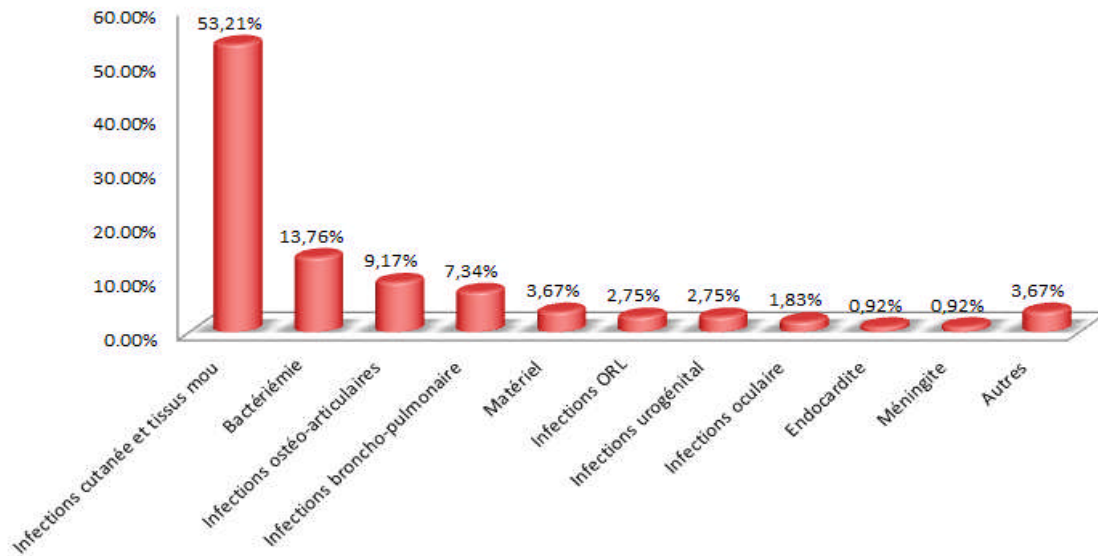


Figure 25: Répartition des patients selon la pathologie (n=109)

III. Résistance à l'oxacilline et proportion des souches MRSA

La détection de la résistance à l'oxacilline a permis de partie les 109 souches isolées en deux catégories : les souches sensibles à l'oxacilline (MSSA) et les souches résistantes à l'oxacilline (MRSA)

Tableau XXII: Le taux des souches MSSA et MRSA

Souche	Effectifs	Pourcentage
MSSA	56	51,38 %
MRSA	53	48,62 %
Total	109	100%

Les résultats montrent que parmi les 109 souches de *S.aureus* isolées, 53 étaient résistants à l'oxacilline (MRSA) représentent ainsi (48.62%) des souches, le reste des souches 56 montre une sensibilité à l'oxacilline (MSSA) ce qui présente un pourcentage de (51.38%)

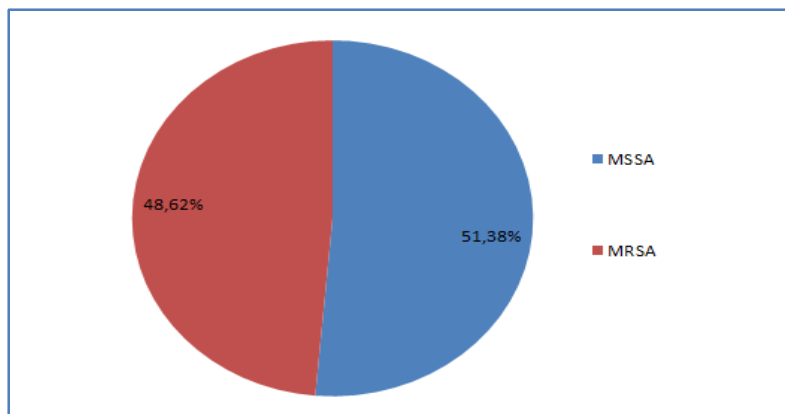


Figure 26: Taux des souches MSSA et MRSA

✓ Etude de phénotype de résistance

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

Leurs phénotypes de résistance très différents, les résultats des MRSA et des MSSA sont présentés séparément

a. Phénotypes de résistance des souches MSSA

Les différents phénotypes de la résistance des souches MSSA sont consignés dans le tableau

Tableau XXIII: Les phénotypes de résistance des souches MSSA

les phénotypes de résistance	Nombre des souches
P	40
P, TE	03
P, E	02
P, K	03
P, K, TE	02
P, CM, E	01
P, E, CIP	01
P, FA, E, CM	01
P, CM, FA	01
P, E, CM, TE	01
P, K, FA, TE	01
Total	56

K: Kanamycine; **E:** Erythromycine; **TE:** Tétracycline; **FA:** Acide fusidique; **CM:** clindamycine ; **CIP:** ciprofloxacine

Les résultats montrent que pour les 56 MSSA, il y'a 11 phénotypes différents, on observe également que l'ensemble des souches sont résistants au moins à un antibiotique ce qui indique l'absence de souche de phénotype sauvage

Nous avons déterminé 40 souches qui ont une résistance isolé à la pénicilline représentent le phénotype largement majoritaire

b. Phénotypes de résistance des souches MRSA

Comme pour les souches MSSA, nous avons déterminés les phénotypes de résistance des MRSA, les différents phénotypes des MRSA sont présentés dans le **tableau XXIV**

Tableau XXIV: Les phénotypes de résistance des souches MRSA

Les phénotypes de résistance	Nombre des souches
P, OX, K	03
P, OX, K, TE	03
P, OX, K, TE, E, CM	03
P, OX, K, TOB, GN, CIP, LVX, TE	02
P, OX, K, FA, TE	02
P, OX, K, GN, E, FA, TE, SXT	02
P, OX, K, LVX, CIP	02
P, OX, K, CM, E	02
P, OX, K, CM(i), E	02
P, OX, K, TOB, TE	02
P, OX, K, E, LVX, CIP	02
P, OX, K, TOB, GN, CM, E, CIP, LVX, FA, TE	02
P, OX, K, TOB, FA, CIP, GN, LVX.	02
P, OX, K, GN, TE, E, CM	02
P, OX, K, E, CM, SXT	02
P, OX, K, E, FA, TE	01
P, OX, K, CM, E, GN	01
P, OX, K, TOB, CIP, CM	01
P, OX, K, CM, E, FA	01
P, OX, K, GN, FA	01
P, OX, K, E, CM, TE, FA	01
P, OX, K, CM, E, FA, SXT, TE	01
P, OX, K, CM(i), E, CIP, LVX	01
P, OX, K, CM, FA, SXT	01
P, OX, K, E, CM, PT, TE	01
P, OX, K, PT, E, TE, SXT	01
P, OX, K, PT, FA, CM	01
P, OX, K, E, SXT	01
P, OX, K, E, CM, SXT	01
P, OX, K, E, FA, TE, SXT	01
P, OX, K, GN, CIP, TE	01
P, OX, K, TE, SXT, CM	01
P, OX, K, GN, E, CM, SXT, TE, FA	01
P, OX, K, TOB, GN, CM, E, CIP, LVX, FA	01
P, OX, K, PT, E, TE, VA, SXT	01
Total	53

Pour les MRSA, nous avons noté 35 phénotypes différents et toutes ces souches sont résistantes au moins à un antibiotique en plus de la famille des B-lactamines. On remarque aussi que tous les souches résistants, en plus des B-lactamines à la kanamycine et que presque toutes les souches sont multirésistantes

IV. Etude de la résistance des *S.aureus* aux antibiotiques

Durant notre étude, nous avons remarqué que les pourcentages de résistance des *S.aureus* vis-à-vis les différents familles des antibiotiques sont très variable, ceci illustré par les figures 27-28

Tableau XXV: Répartition des souches *S.aureus* selon leurs résistances aux ATB

Antibiotiques	Nbre des souches résistances	P(%)	Nbre de souches sensibles	P (%)
Pénicilline (P)	109	100	0	0
Oxacilline(OX)	53	48,62	56	51,38
Kanamycine(K)	59	54,13	50	45,87
Gentamycine(GM)	15	13,76	94	86,24
Erythromycine(E)	31	28,44	78	71,56
Ciprofloxacine (CIP)	13	11,93	96	88,07
Clindamycine (CM)	28	25,69	81	74,31
Pristinamycine (PT)	3	2,75	106	97,25
Vancomycine (VA)	1	0,92	108	99,08
Tétracycline (TE)	34	31,19	75	68,81
Rifamycine (RIF)	0	0	109	100
Acide fusidique (FA)	21	19,27	88	80,73
Tobramycine (TOB)	10	9,17	99	90,83
Sulfaméthoxazole + triméthoprimine (SXT)	13	11,93	96	88,07
Levofloxacine (LVX)	11	10,09	98	89,91
Fosfomycine (FOS)	0	0	109	100
Teicoplanine (TEIC)	0	0	109	100

Les résultats ont montré :

Une résistance de la totalité des souches (100%) vis-à-vis de la pénicilline, suivie d'une résistance remarquable à la kanamycine (54,13%) et à l'oxacilline (48,62%) ainsi qu'à l'érythromycine (28,44%) et le clindamycine (25,69%) le taux de résistance de la tétracycline, l'acide fusidique et le Gentamycine sont respectivement de : 31,19%, 19,27% et 13,76% ; un pourcentage faible est enregistré pour la tobramycine (9,17%), et la pristinamycine (2,75%) ..

et aucune résistance n'a été notée pour la rifampicine, fosfomycine et la teicoplanine

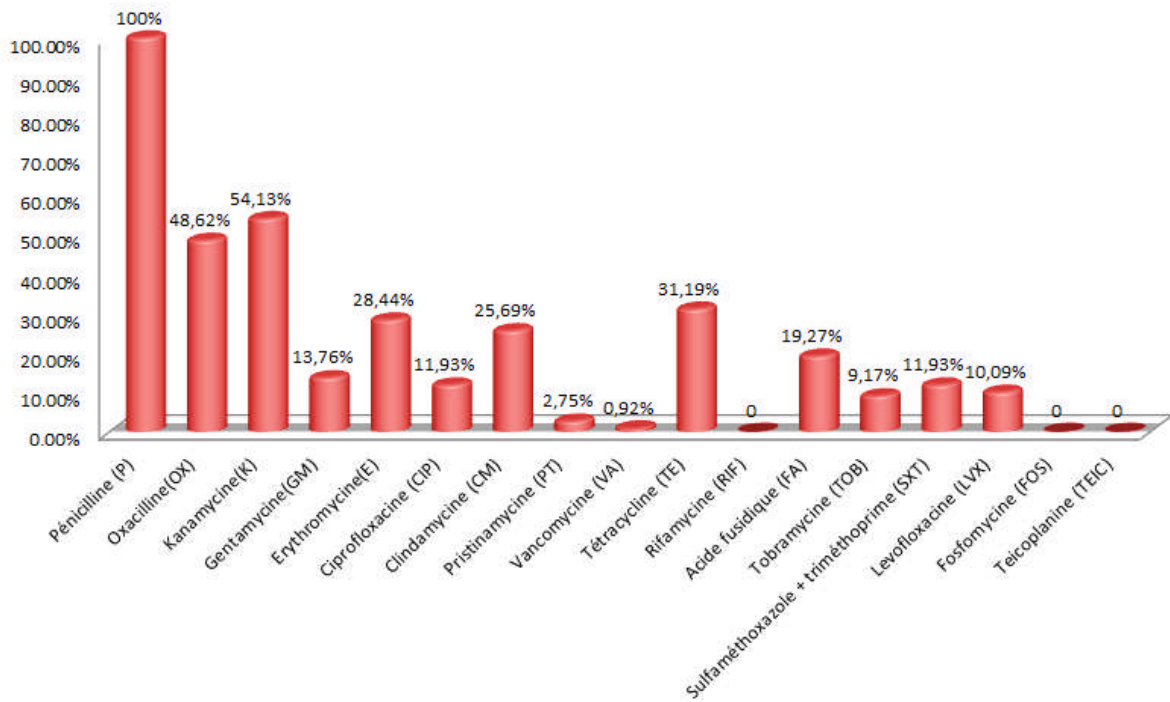


Figure 27 : Répartition des *S.aureus* selon leurs résistances aux ATB (n=109)

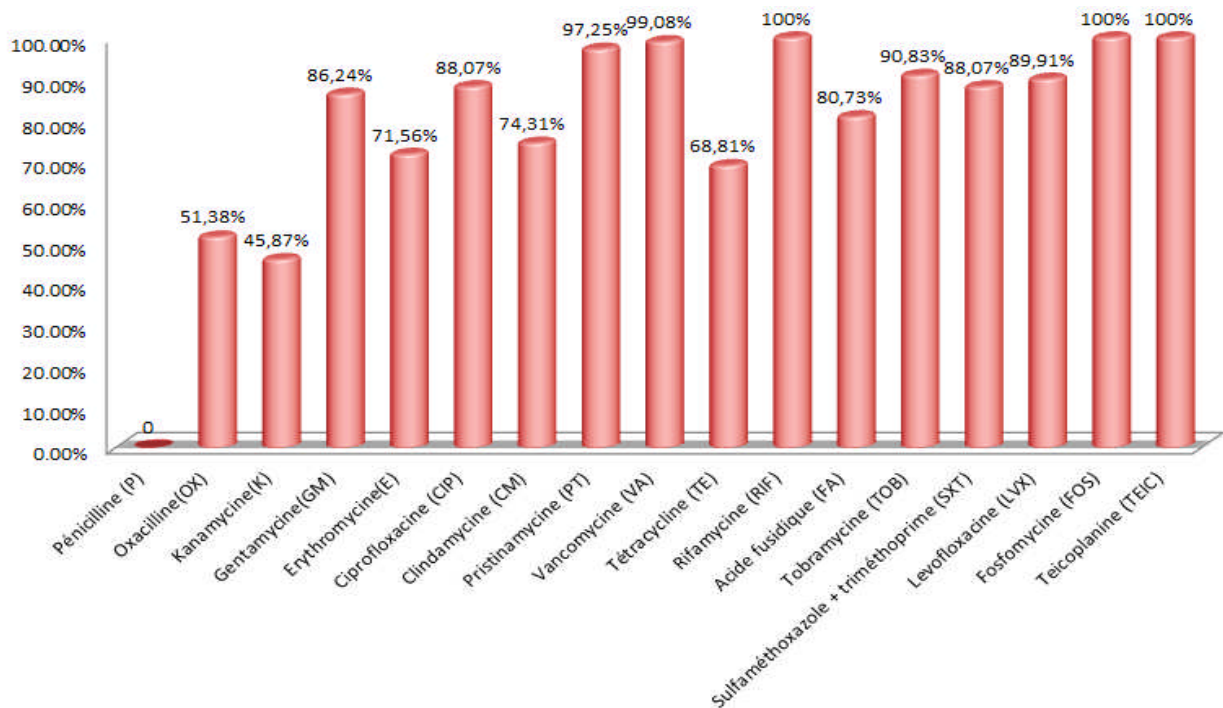


Figure 28 : Répartition des *S.aureus* selon leurs sensibilités aux ATB (n=109)

a. Etude de la résistance de MSSA aux antibiotiques

Durant notre étude, nous avons remarqué que les pourcentages de résistances de MSSA vis-à-vis les différents familles des antibiotiques sont très variables le **tableau XXVI**

Tableau XXVI: Répartition des MSSA selon leurs résistances aux ATB

Antibiotiques	Nbre des souches résistances	P(%)
Pénicilline (P)	56	100
Oxacilline(OX)	00	0
Kanamycine(K)	06	10,71
Gentamycine(GM)	15	26,79
Erythromycine(E)	04	7,14
Ciprofloxacine (CIP)	01	1,79
Clindamycine (CM)	03	5,36
Pristinamycine (PT)	00	0
Vancomycine (VA)	00	0
Tétracycline (TE)	07	12,5
Rifamycine (RIF)	00	0
Acide fusidique (FA)	03	5,36
Tobramycine (TOB)	00	0
Sulfaméthoxazole + triméthoprim (SXT)	00	0
Levofloxacine (LVX)	00	0
Fosfomycine (FOS)	00	0
Teicoplanine (TEIC)	00	0

On note d'après la **figure (29)** que les souches MSSA ont été retrouvées résistants à la pénicilline (P) soit un taux de 100%, suivi à la Gentamycine (GN)26,79%, tétracycline (TE) 12.5%, le kanamycine (K)10,71%, Erythromycine(E) 7.14%, l'acide fusidique (FA) 5.36%, aucune souche également n'a été retrouvée à la vancomycine(VA), tobramycine(TOB), levofloxacine (LVX)

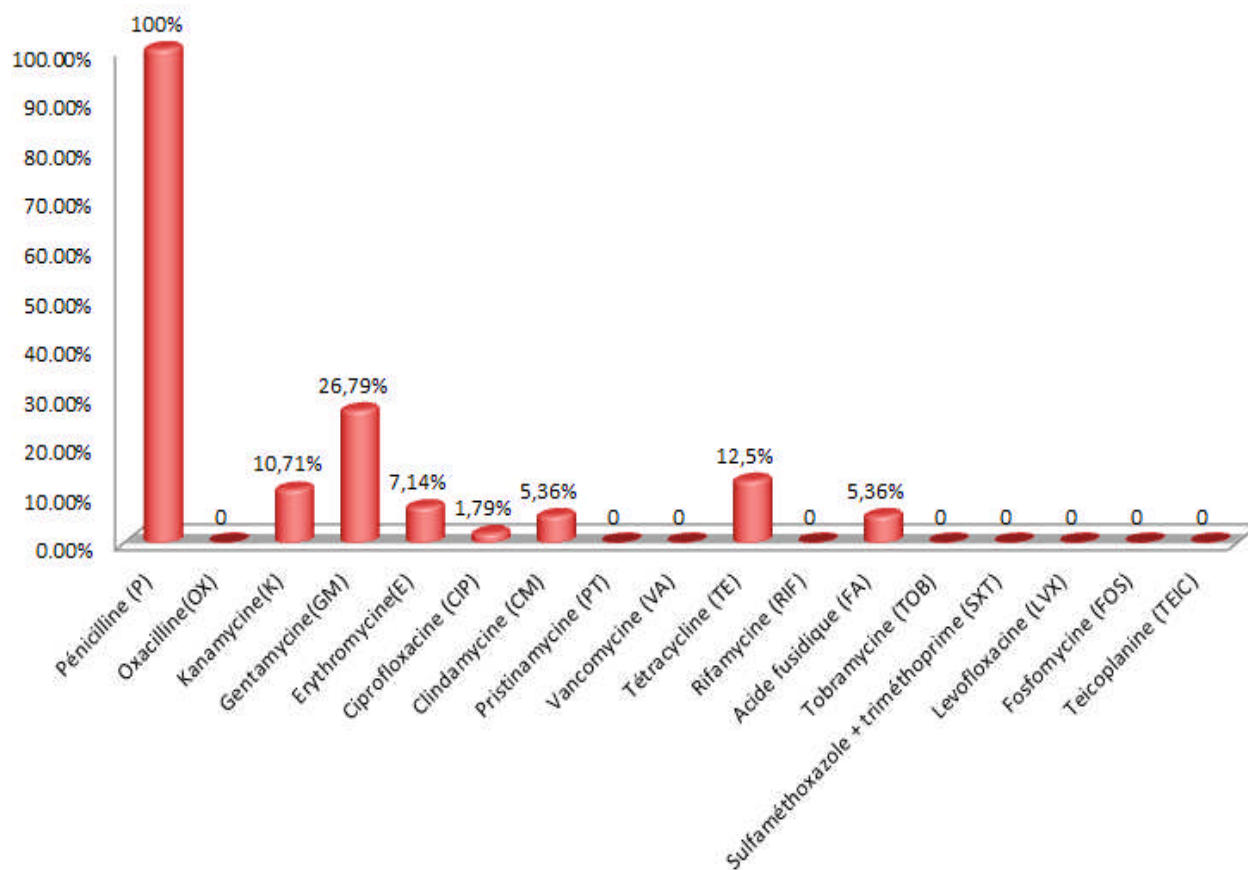


Figure 29: Répartition des MSSA selon leurs résistances aux ATB (n=56)

b. Etude de la résistance de MRSA aux antibiotiques

Durant notre étude, nous avons remarqué que les pourcentages de résistances de MRSA vis-à-vis les différents familles des antibiotiques très variables ceci est illustré par **la figure 30**

Tableau XXVII: Répartition des MRSA selon leurs résistances aux ATB

Antibiotiques	Nbr des souches résistances	Pourcentage (%)
Pénicilline (P)	53	100
Oxacilline(OX)	53	100
Kanamycine(K)	53	100
Gentamycine(GN)	15	28,30
Erythromycine(E)	27	50,94
Ciprofloxacine (CIP)	12	22,64
Clindamycine (CM)	25	47,17
Pristinamycine (PT)	03	5,66
Vancomycine (VA)	01	1,89
Tétracycline (TE)	27	50,94
Rifamycine (RIF)	00	0
Acide fusidique (FA)	18	33,96
Tobramycine (TOB)	10	18,87
Sulfaméthoxazole + triméthoprime (SXT)	13	24,53
Levofloxacine (LVX)	11	20,75
Fosfomycine (FOS)	00	0
Teicoplanine (TEIC)	00	0

Les résultats ont montré : Une résistance de la totalité des souches (100%) vis-à-vis la pénicilline (P) , l'oxacilline (OX), et la kanamycine (K), suivi d'une résistance remarquable à l'érythromycine (E) et le Tétracycline (TE) (50,94%), Les taux de résistance est la même pour la clindamycine (CM) (47,17%), Pour l'acide fusidique (FA), la gentamycine (GM), et la Sulfaméthoxazole + triméthoprime (SXT) sont respectivement : (33,96%), (28,30%) et (24,53%), Un pourcentage faible est enregistré pour Pristinamycine (PT) (5,66%) et la vancomycine (VA) (1,89%)

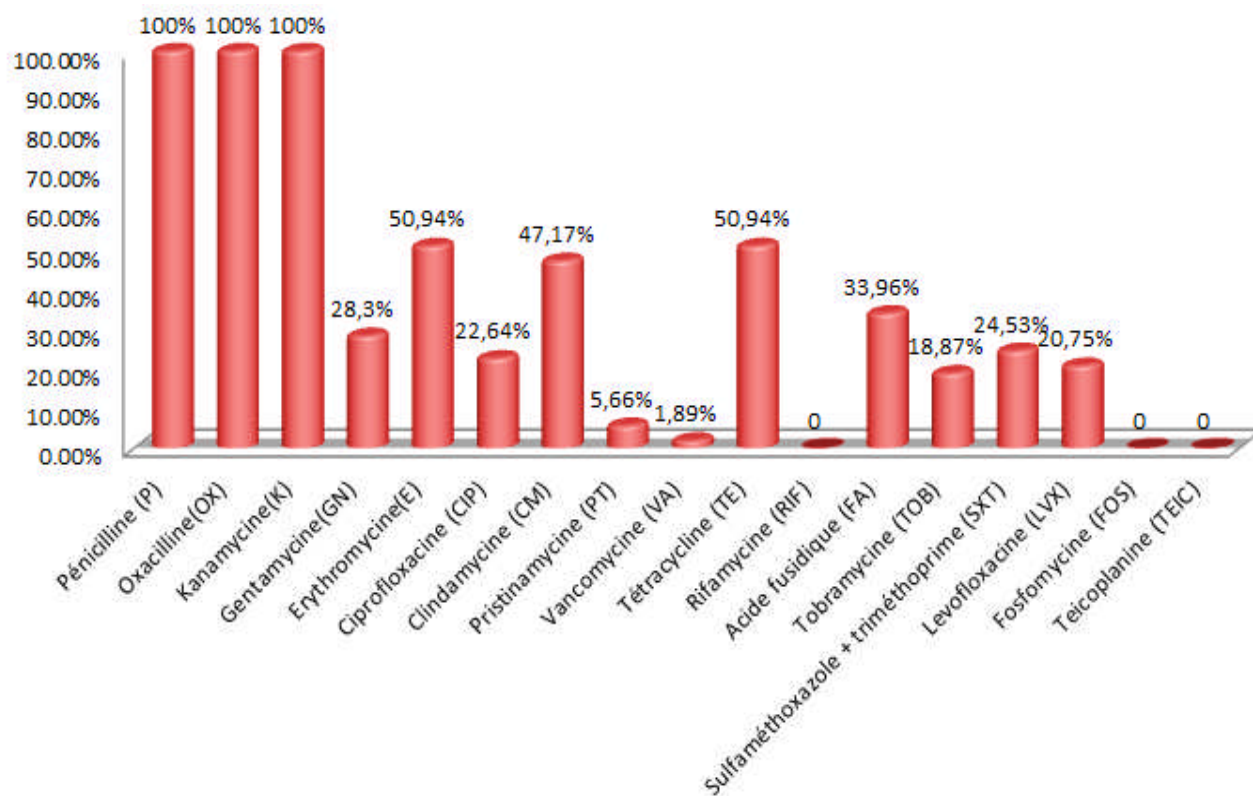


Figure 30: Répartition des MRSA selon leurs résistances aux ATB

V. Répartition des phénotypes de résistance aux aminosides

Pour la famille des aminosides, il est intéressant de détailler les phénotypes de résistance vue leur variété ainsi que leur importance de point de vue épidémiologique

Pour les MSSA :

Les différents phénotypes de résistance des MSSA aux aminosides sont présentés dans la **figure 31**

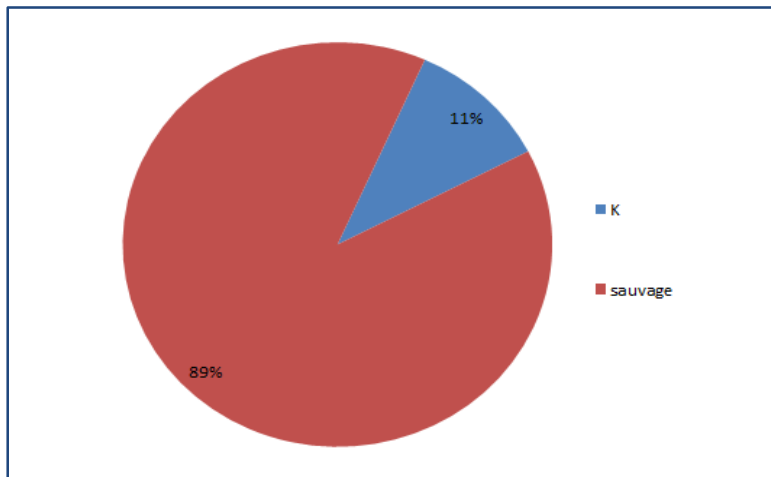


Figure 31: Phénotypes de résistance des MSSA aux aminosides (n=56)

Concernant la résistance aux aminosides Le phénotype sauvage est largement majoritaire, le phénotype K n'a été trouvé que chez 6 souches, ceci représente 11%

Pour les MRSA :

Les différents phénotypes des MRSA aux aminosides sont présentés dans **la figure 32**

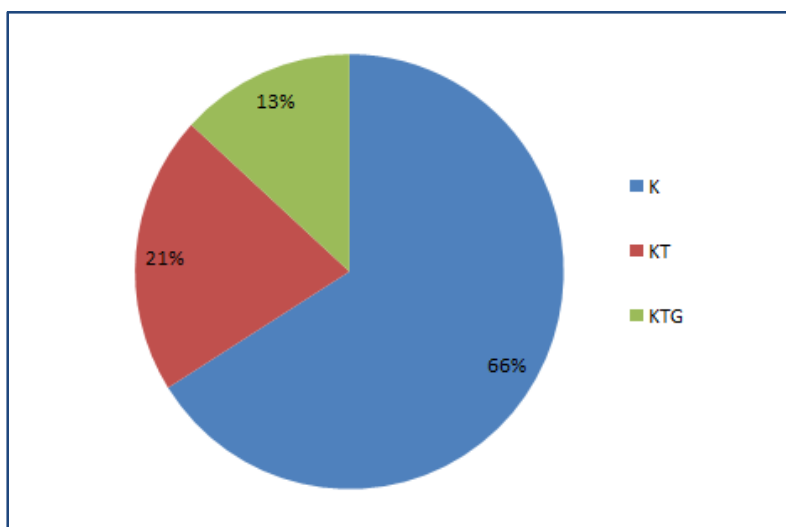


Figure 32: Phénotypes de résistance des MRSA aux aminosides (n=53)

vis-à-vis des aminosides ,66% des MRSA sont de phénotype K, le phénotype KT est exprimé par 21% des souches alors que le phénotype KTG n'a été trouvé que chez 07 souches (13%)

Aucune souche MRSA n'a exprimé un phénotype sauvage vis-à-vis des aminosides

Pour la totalité des souches :

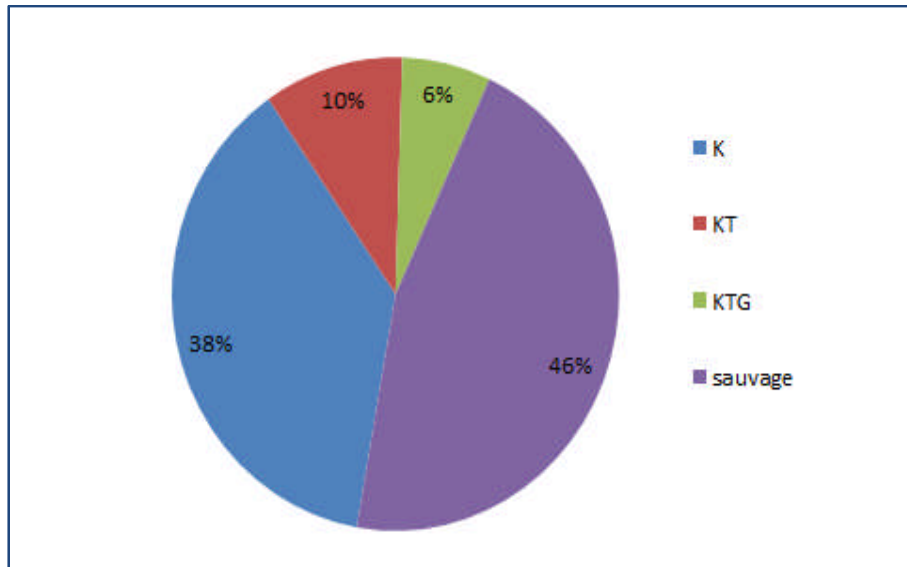


Figure 33: Phénotypes de résistance aux aminosides (n=109)

Pour les aminosides les phénotypes sauvages est majoritaire, suivie de phénotype K qui est bien présentée (38%) le phénotype KT est exprimé par 10% des souches, et les phénotypes KTG reste rare (6%)

VI. Répartition des phénotypes de résistance aux Macrolides –Lincosamides – streptogramines (MLS)

Pour la famille des MLS, il est intéressant de détailler les phénotypes de résistance vue leurs variété et leurs importance de point de vue épidémiologique

Pour les MSSA :

Les différents phénotypes de résistance des MSSA aux MLS sont présentés dans **la figure 34**

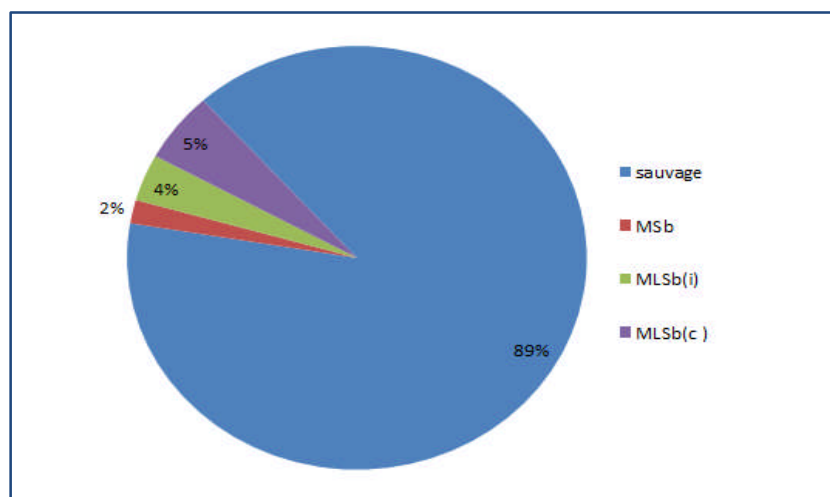


Figure 34: Phénotypes de résistance des MSSA aux MLS (n=56)

Pour les MLS, le phénotype sauvage est largement majoritaire (89%), le phénotype MLSB(c) a été retrouvé chez 03 souches (5%), cependant, 02 souches ont exprimé le phénotype MLSB (i) (4%), le phénotype MSb été retrouvé que chez une seule souche

Pour les MRSA :

Les différents phénotypes de résistance des MRSA aux MLS sont présentés dans **la figure 35**

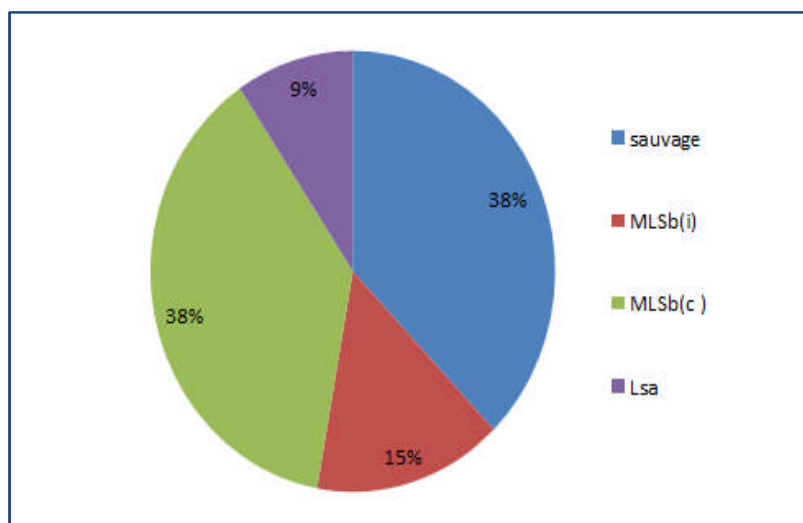


Figure 35: Phénotypes de résistance des MRSA aux MLS (n=53)

Vis-à-vis des MLS, le phénotype sauvage est majoritaire (38%), le phénotype MLSB est de (53%), l'expression la plus souvent constitutive que inductible (38%, 15%).

Nous avons décelé 05 souches résistantes à la pristinamycine indiquent le phénotype LSa

Pour la totalité des souches :

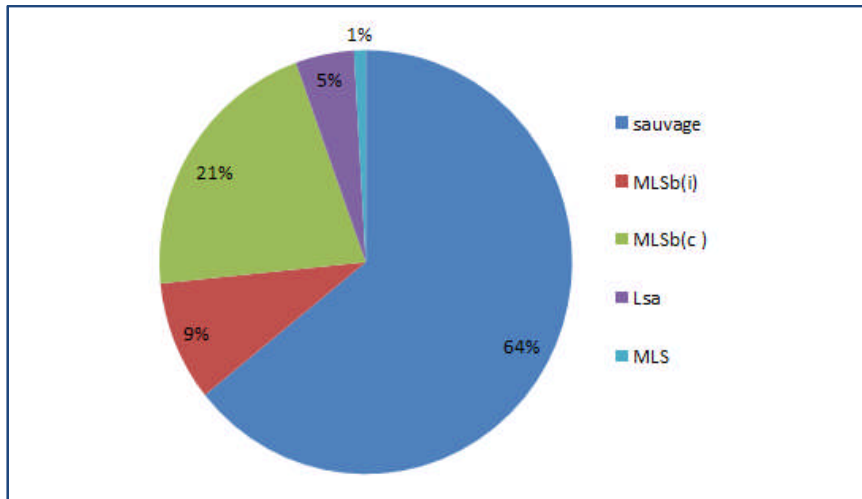


Figure 36: Phénotypes de résistance aux MLS (n=109)

Pour les MLS, le phénotype sauvage est majoritaire avec (64%), le phénotype MLSB est d'expression inductible (09%) des cas constitutif (21%) des cas.

Notre travail a été réalisé au CHU Mustapha bacha durant la période allant de janvier à juin 2013 portant sur l'isolement de *Staphylococcus aureus* à partir de différents prélèvements (hémoculture, pus...) ainsi que ses résistances aux antibiotiques usuels (β -lactamines, MLS, aminosides, glycopeptides).

Selon nos résultats les staphylocoques sont parmi les germes les plus rencontrés avec un taux de 18.94% (se classent juste après *E. coli* qui représente 34.95% de l'ensemble des espèces bactériennes isolées) ces résultats sont similaires à ceux de **Dr bekkhoucha el al(2012)** dans l'ouest algérien (12%).

Le *S.aureus* a été fréquemment isolé des prélèvements de pus superficiels (58.72%), ce résultat est prévisible puisque les staphylocoques capables de provoquer une accumulation locale de polynucléaires neutrophiles altérés ce qui se traduit par la formation de pus « suppurations collectés », ce sont des germes pyogènes par excellence (**Ibara ; 2000**), mais aussi dans les ponctions (pus profonds) à un taux remarquable de 22.94%.

Quant à la répartition des germes de *S.aureus* selon le sexe, nous avons remarqué un nombre nettement supérieur chez les patients du sexe masculin avec un taux de 57.91% par rapport au sexe féminin qui est de 42,39%.

Ces facteurs favorisant le risque d'acquisition d'infection à *S.aureus* à la suite d'intervention chirurgicale.

Les patients âgés de plus de 45 ans enregistrent le taux le plus important de portage de *S.aureus* et d'après plusieurs études sur les facteurs de risques favorisant le portage de ce germe, tels que les travaux de **Graham et ses collaborateurs (2006)** ainsi que **Kreisel et ses collaborateurs (2006)**, ils ont rapporté que les personnes âgées sont largement plus disposées à acquérir le *S.aureus*, cela peut être expliqué par la diminution de l'immunité chez ces patients âgés et le manque d'hygiène, car d'après **Leclercq (2004)** l'âge (plus de 60 ans) constitue un facteur de risque d'acquisition des SARM.

L'âge avancé est un facteur de risque d'infections à *S.aureus* (**OMS, 2008**).

S.aureus était isolé pratiquement dans tous les services de l'hôpital mais a des fréquences inégales ; le service le plus représenté est celui de dermatologie avec 22.94% des souches, ce résultat concorde avec le fait que la majorité des souches était impliquée dans des infections cutanées.

Une fréquence élevée également dans les services de chirurgie 25.7% ces fréquences élevées s'expliquent par le fait que ces services hébergent des malades présentant des portes d'entrées cutanées ce qui constitue un facteur de résistance majeur d'infection à *S.aureus*, cette dernière est responsable selon **Jarlier et Carbonne (2003)**, d'un tiers des infections de site opératoire.

Discussion générale

Selon **Lepelletier et al (2004)**, les services de réanimation possèdent les taux les plus élevés, en plus du service de dermatologie qui peut être considérée comme un facteur de risque d'infection à MRSA.

La majorité des infections cutanées et des tissus mous, selon **le Minor et véron (1989)** et **le Noir et Gantier (2009)**, *S.aureus* est le premier pathogène responsable des infections cutanées.

Nous avons remarqué un pourcentage élevé des bactériémies (13.76%), ces infections sont responsables d'un taux de mortalité élevé .selon **Girand et al (2004)**,*S.aureus* partage avec *E.coli* le 1^{er} rang des germes responsables de bactériémies ,les infections ostéo articulaires représentaient (9.17%), les staphylocoques sont responsables de 50 à 60% de ces infections , ces dernières sont souvent responsables du séjour prolongés à l'hôpital , les pneumopathies sont aussi fréquentes et représentent (7.34%). *S.aureus* est fréquemment incriminé dans les pneumopathies (**Batard et al ; 2007**).

Les infections urinaires étaient moins fréquentes (2.75%), selon **le Noir et Gautier (2009)***S.aureus* est rarement responsable d'infections urinaires, les endocardites représentent (0.92%) il s'agit d'une infection grave et *S.aureus* est responsable de la moitié des endocardites liées aux soins, les méningites étaient rares avec un seul cas, les données de la littérature confirment la rareté de la localisation de ce germe dans les méninges (**Batard et al ; 2007**).

Dans notre étude sur les 109 souches le taux de la résistance à la pénicilline G est total de 100%, ce pourcentage avoisine celui trouvé par **Lowy et al,Zygmunt et al**, rapportent qu'actuellement plus de 90% de souches de *S.aureus* résistantes à la pénicilline G par la production de pénicillinase.

Elhamzaoui et al,trouvant 86.80% le taux de résistance à la pénicilline, le support génétique de cette résistance a été décrits par **Pinho et al**, le gène pénicillinase appartient à un transposon, localisé le plus souvent sur un large plasmide il peut également s'intégrer dans le chromosome.

Nos résultats montrent que la détection de la résistance à la méthicilline à l'aide du disque de céfoxitine ou l'oxacilline révélée les mêmes résultats, par contre l'étude de **hamsdad et al** et celle de **Mougeont et al**, montre que la détection de la résistance avec le céfoxitine est plus aisée qu'avec l'oxacilline.

La fréquence de la résistance à l'oxacilline est de 48.62% ce résultats est comparable avec trouve par **Quitin et al** avec 39% des souches méti-R, **hamze et al** ont trouvé 30% de *S.aureus* sont des SARM, ce taux est plus élevé que celui trouvé dans une autre étude réalisée en Maroc en 2008, ou le pourcentage de *S.aureus* résistantes à la méthicilline est de 7.1% et la méthicilline reste le traitement de choix aux Maroc.

En Afrique, la prévalence de MRSA est en train de changer. Il était prêt à 36% au Bénin en 2006 (**Ahoyo et al**), avant de diminuer en 2008, avec un taux de 14,5% (**Baba-Moussa et**

al), alors qu'en Algérie, le taux de SARM a été en constante augmentation avec 4,5% en 2002 (**Kesah el al**), 33,2% en 2008 (**Ramdani-Bouguessa el al**), et de 45% en 2009 (**Bekhoucha et al**).

Les résultats de cette étude sur la prévalence du SARM à Tlemcen unité de chirurgie de l'hôpital (Nord-Ouest de l'Algérie) donnent un taux de 51%. Ce pourcentage, bien inférieur à ce qui a été rapporté pour les États-Unis et le Sénégal avec respectivement 70% et 72% (**Awad et al**, **Seydi et al**), est proche de celui rapporté en Egypte en 2007 (**Borg et al**) mais reste significativement supérieur à ceux rapportés pour la cote d'ivoire, le Maroc et la Tunisie avec respectivement 25%, 19,3%, et 15,3% (**Akoua-Koffi et al(2004)** – **Mastouri et al(2009)**).

En effet, les données peuvent changer dans le temps d'un quartier à l'autre (**Belabbès et al(2001)**).

Les phénotypes de résistance des *Staphylococcus aureus* sont très variables, ceci s'explique par le fait que staphylococcus aureus est une bactérie multirésistante qui possède une résistance à toutes les bêtalactamine ; cette résistance peut être associées à la résistance à d'autres familles d'antibiotiques.

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

Pour les 53 MRSA, la résistance à la méticilline est associées dans 100% des cas à la résistance à la kanamycine, à la gentamycine (28.30%), à l'érythromycine et la tétracycline (50.94%), à la clindamycine (47.17%) à l'acide fusidique (33.96%) à la cotrimoxazole (24.53%) et dans (20.75%) des cas de la levoflaxine.

La résistance aux antibiotiques de la famille des aminosides est surtout une résistance associée à la résistance à la méthicilline et 11% des MSSA sont de phénotype Alors que toutes les SARM présentaient une résistance à au moins un des 3 antibiotiques de cette famille, la résistance à la méthicilline est associée dans 66% des cas à un phénotypes K, 21% de phénotypes KT et au phénotype KTG dans 13% des cas, ces résultats se rapprochent de ceux rapportés un étude réalisée au CHU de Constantine où toutes les MRSA étaient résistantes à la kanamycine et 37.5% avaient un phénotype KTG et 2.5% seulement avaient un phénotype KT (**Antri,2009**).

Dans notre étude, le phénotype MLSb est bien représenté (33 souche) et l'expression le plus souvent constitutif (21%) que inductible (09%) alors que dans l'étude de **Quentin et al(2001)**, le phénotype MLSb souvent constitutif (17%) que inductible (14%).

Selon **Elazhari M (2009)**, l'incidence des deux phénotypes de résistance MLSB(i) et MLSB(C) chez *S.aureus* varié selon les régions géographiques, et ces phénotypes ne peuvent pas prédire la résistance ou la sensibilité à la méthicilline.

Discussion générale

Une seule souche résistante à la vancomycine avec une sensibilité de 100% vis-à-vis de la teicoplanine confirmant la place des glycopeptides comme traitement de choix contre les infections à SARM, la sensibilité diminuée de *S.aureus* aux glycopeptides pose un problème d'actualité et différentes études rapportent la détection de souche de *S.aureus* de sensibilité diminuée à ces antibiotiques, ces souches ont déjà été décrites en Tunisie (**M.zribi 2009**), d'autres souches présentent un niveau élevé de résistance aux glycopeptides ont été décrites plus récemment.

En Algérie ; 03 souches résistantes à la vancomycine ont été isolées aux CHU de Tlemcen en 2012, il s'agit des premières souches isolées en Algérie, l'émergence de ces souches impose une vigilance accrue, cette résistance peut être due à la cinétique bactéricide des glycopeptides qui est lente et aux phénomènes de tolérance qui ont été décrits ainsi qu'à la diffusion tissulaire minime, ceci rendent nécessaire un traitement bactéricide en bithérapie ou l'utilisation abusive (**Albanes et al ; 2002**).

Au niveau de l'hôpital de Mustapha Bacha, des efforts sont de plus en plus fournis visant à réduire la prévalence des infections et à lutter contre les bactéries multi résistantes ceci par :

- ✓ Une antibiothérapie précoce de ces infections et adapter aux résultats de l'antibiogramme
- ✓ Des mesures d'hygiène : désinfection et nettoyage des mains et des lésions cutanées

Conclusion

Au terme de notre travail réalisé au CHU Mustapha Bacha – Alger centre durant une période de 06 mois et portant sur 109 souches de *Staphylococcus aureus* à partir de 1093 bactéries isolées provenant de 17 services répartis en 3 catégories : services de médecines, services de réanimation et services de chirurgie, nous pouvons conclure que :

- ✓ Les Staphylocoques sont parmi les germes les plus isolés au niveau des services concernés.
- ✓ Les analyses phénotypiques des échantillons ont mis en évidence des souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méthicilline (MSSA) et des souches résistantes à la méthicillines (MRSA).
- ✓ L'étude de phénotypes de résistance montre que toutes les souches résistantes, en plus des bêta-lactamines à la kanamycine et que presque toutes les souches sont multirésistantes.

Les taux de résistance et de sensibilité de 109 souches de *Staphylococcus aureus* isolées vis-à-vis de 16 antibiotiques, et la détermination de la prévalence des souches méticilline-R. 48.62% des souches analysées sont résistantes à la méticilline, 100 % sont résistantes à la pénicilline. Le taux moyen de souches résistantes est de 54.13% à la kanamycine, 13.76% à la gentamicine, 31.19% à la tétracycline, 28.44% à l'érythromycine, 25.69% à la clindamycine, 11.93% au triméthoprim-sulfaméthoxazole.

Pour les glycopeptides nous avons enregistré une seule souche résistante à la vancomycine et aucune souche résistante à la teicoplanine ce qui confirme que ces antibiotiques et particulièrement la vancomycine est l'antibiotique de référence dans le traitement des infections MRSA, cette molécule doit être préservée et n'être utilisée que dans les infections graves à MRSA.

L'évolution de résistance pendant ces dernières années a montré que les taux de résistance restent élevés et ne diminuent pas, ce qui nous pousse à dire que les efforts visant à réduire la résistance aux antibiotiques doivent être renforcés.

Recommandations

Enfin ; rappelons les mesures d'hygiène de base pour prévenir contre le *staphylococcus aureus* :

- ✓ Se laver les mains régulièrement, puis qu'il se transmet par un simple contact manuel

- ✓ Soigner tout bouton ou plaie accompagnés de pus, qui s'enflamment et deviennent douloureuse

- ✓ L'utilisation d'une serviette individuelle, d'un savon antiseptique

- ✓ L'hygiène et la désinfection des lignes de toilettes et du cops ...

- ✓ En rapport avec l'entérotoxines : attention particulière aux infections superficielles chez les cuisiniers, réfrigération des aliments préparer à l'avance

- ✓ Politique de l'emploi des antibiotiques tenantcomptent que dès qu'un antibiotique est largement utilisé dans un comité,des souches résistantes apparaissent

- ✓ L'isolement des patients porteurs de SARM, associé au respect permanent des mesures d'hygiène

- ✓ Nécessité de stériliser les instrumentschirurgicaux

1. **Ahoyo AT, Baba-Moussa L, Makoutode M, et al; 2006.** Incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in neonatal care unit of departmental hospital center of Zou Collins in Benin. Arch Pediatr ; 13:1391–6
2. **Akoua-Koffi C, Guessennd N, Gbonon V, Faye-Ketté H, Dosso M;2004:** Methicillin-resistance of *Staphylococcus aureus* in Abidjan (1998–2001): a new hospital problem. Med Mal; 34:132–6.
3. **Albanes J, Bourgouin A, Martin C;2002:** Associations d'antibiotiques dans les infections à Staphylocoque doré, les arguments contre, Annales Françaises d'Anesthésie et de réanimation volume 21, Issue 5, pages 399-405
4. **Antri A, Rouzic N, boubkri I, Dauwalder O, Beloufa A, Ziane H,djennane F,Neggazi M, Benhabyles B, Bes M, Tazir M, Etienne J, Remdani –Bouguessa N,2009 :**forte prévalence des infections communautaires et nosocomiales a *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline et portant le gène de leucocidine de panton-valentine dans l'Algérie , pathologie Biologie N=58 P :15-20
5. **Avril J.L., Dabernat H., Denis F. and Monteil H ; 2003 :** Bactériologie clinique. 3ème édition. Ellipses, P 8-28.
6. **Awad S, Elhabash S, Lee L, et al; 2007:** Increasing incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tissue infections: reconsideration of empiric antimicrobial therapy. Am J Surg ; 194:606–10
7. **Baba-Moussa L, Anani L, Scheftel JM, Couturier M, Riegel P, Haïkou N, et al; 2008:** Virulence factors produced by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from urinary tract infections. J Hosp Infect 68:32–8.
8. **Batard E, el kourbi D, Potel G;2007 :** infections a staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques EMC, Maladies infectieuses : 8-007-A-10
9. **Bekkhoucha SN, Cady A, Gautier P, Itim F, Donnio PY;2009:** A portrait of *Staphylococcus aureus* from the other side of the Mediterranean sea: molecular characteristics of isolates from Western Algeria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis; 28:553–5
10. **Bekkoucha S-N, zouagui.S, ghrissi.M, Litim.F, Malti.H ; 2012 :** caractéristiques des staphylococcus aureus dans l'ouest algérien, laboratoire de microbiologie –CHU Oran, société algérienne de la microbiologie clinique (SAMiC) 4ème journée scientifique sur les *Staphylococcus aureus*, une germe des pathologies, institut pasteur de Dely Brahim Algérie 44P
11. **Belabbès H, Elmdaghri N, Hachimi K; 2001 :** Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* isolé des infections communautaires et hospitalières à Casablanca. Med Mal Infect;31:25–8.
12. **BERGER-BACHI.B :1997 :** Résistance aux bêta-lactamines Méd Mal Infect. 1997 ; 27, Spécial : 195-200

13. **Borg MA, De Kraker M, Scicluna E, Van de Sande-Bruinsma N, Tiemersma E, Monen J; 2007:** Prevalence of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries. J Antimicrob Chemother; 60:1310–5
14. **Breche P., Gaillard J. and Simonet M; 1988:** Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie“ Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, P 267-277
15. **CHORAB ; 2007 :** prévalence du portage nasal en MRSA dans la population de BLIDA
16. **Claude Martin ; 2008 :** urgences et infections, GUIDE du bon usage des antibiotiques, antifongiques, antiviraux, antiseptique
17. **CLSI, 2010 :** Surveillance for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* : Principles, Practices, and Challenges ; A Report, 2010, Clinical and Laboratory standards institute.
18. **Corne P, 2004 :** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique France 175 p
19. **Couture B ; 1990 :** Bactériologie médicale «Etude et méthodes d’identification des bactéries aérobies et facultatives d’intérêt médical». Vigot, P15-32.
20. **Daurela.C, Leclercq.R; 2008 :** ‘L’antibiogramme de *Staphylococcus aureus* – revue francophone des laboratoires –décembre 2008- N°407 – Elsevier Masson P81-90
21. **Delarras C; 2007:** Microbiologie pratique pour le laboratoire d’analyse ou le contrôles sanitaire, lavoisière, P 407- 476
22. **Elazhari M ; 2009 :** activité de 16 antibiotiques vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (Maroc) et prévalence des souches résistantes à la méticilline, European journal of scientific research, 30(1) P : 128-134
23. **Elhamzaoui S ; Benouda A ; Allali F ; Abou qual R ; Elouenass M ; 2009 :** sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à rabat Maroc, Médecine et maladies infectieuses, N°2840 : P 1-5
24. **Eykin SJ; 1996: Staphylococci.** In: DJ Weatherall. JG Ledingham eds. Oxford text book of medicine. Oxford medical publications. 533-542
25. **Fasquelle R ; 1974 :** Eléments de bactériologie médicale 9ème édition. Flammarion, P 27-36

26. **Fauchère J.L, Avril J.L, 2002** : la bactériologie Médicale et générale, Ellipses, France
27. **Ferron.A ; 1984** : Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. 12ème édition. CROUAN et ROQUES, P 87-94.
28. **Figarella. J, Leyral.G, Terret.M : 2001** ; microbiologie générale et appliquée. LT édition Jasques Lanore P : 121-153
29. **François ; 2003** : maladies infectieuses toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales –éditions heures France
30. **François P, Marie-cécile.P, Christian.M.Edouard.B, Roland.Q ; 2007** : bactériologie Médiacla technique usuelles .573 P
31. **GARRITY ET HOLT, 2001**: bergey's Manuel of systematic bacteriology, second edition springer – Verlag, new-York 2ed edition; volume L; taxonomic outline of the archea, 2001 p 155-166
32. **GENEVIÈVE PELLETIER-JACQUES ; 2012** : Université de Montréal, étude de la virulence et de la résistance aux antibiotiques des *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline chez le porc à l'abattoir au QUÉBEC
33. **Girand K, Chatap G, Bastuji-Garin S, Viancent J-P ; 2004**: impact de la colonisation nasale par le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline dans une unité de soins de suite gériatrique, la presse Médicale, N33 P : 1497-1501
34. **Gordan L,cloECKAERT A, BoubletB, Schwarz S, Bouju-Albert A, GaniereJ.P, LeBris H, le fleche-mateosA, Girand E.2008**: complete sequance of the floR carrying multirésistance plasmid PAB 559 from fresh water aeromonasbestiarum J.Antimicrob.chemother.62,65-71
35. **Graham. P, L, Lin.S, X, and Larson E.L, 2006**: evaluating the prevalence and risk factors for carrying *Staphylococcus aureus* in the nonhospitalized U.S. Population annals of internal medicine.144: 318-325
36. **Hamdad F ; Donda F ; Laurancs G, Camarelli B, Rousseau M, Biende D, Thomas F ; ED ; 2006** : performances des différents méthodes de détection de la résistance à l'oxacilline de souches de *S.aureus*, pathologie biologie, N°54 : P 447-452
37. **Hamze M ; Babboussi, Dher W ; Tzard D ; 2003** : résistance aux antibiotiques de *S.aureus* aux nord du Liban : Place de résistance à la méticilline et comparaison des Méthodes de détection, pathologie Biologie N°51 p : 21-26

38. **Hardy K.J ;Hawkey M ,Gao F. and oppenheim B.A , 2004** : methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the critically ill ,Br.J Anesth.92:121-130
39. **Ibara.J.R, Ollandzobo Ikobo.L.C, Atipo Ibara.B.I, Itoua Ngaporo.A.2000** ; Abcès du foie a germes pyogènes aspects cliniques, morphologiques et étiologiques, à propos de 38 cas, service de gastro-entérologie et Médecine interne, centre hospitalier et universitaires – BP 32 – Brazzaville-Congo
40. **Jacqueline.C, Tattevin.P ; 2012** : Ceftaroline, nouvelle céphalosporine active sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : données expérimentales et cliniques, perspectives thérapeutiques
41. **Jarlier .v Carbonne.A ;2003** : Staphylocoques dorés résistantes à la méticilline et entérobactéries productrices de B-lactamases a spectre étendu , dans les établissements de soins en France ,réseau d’alerte, d’invertigation et de surveillance des infections nosocomiales France.11 P
42. **Joffin JN. et Leyral G ; 2006** : Microbiologie Technique Tome 1 ” Dictionnaire des techniques”. CRDP AQUITAINE. Bordeaux. 189-320.
43. **Kesah C, Ben Redjeb S, Odugbemi TO, Boye CS, Dosso M, Ndinya Achola JO, et al;2002**: Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospital and Malta. Clin Microbiol Infect; 9:153–6.
44. **Kreister.K, Boyd K, Langembeng P, and Roghmann M, 2006**: risk factor of recurrence in patients with *Staphylococcus aureus* infectious complicated by bacteremia, diagnostic microbiology and infectious disease 1:1-6
45. **Le Minor. L et Véron .M, 1989**: bactériologie médicale ,2em édition Flammarion médecine science, paris ,1107 p
46. **Le Noir, Gautier M ,2009** : *Staphylococcus aureus*, Lavoisier 279P
47. **Leclercq R, 2004**: épidémiologie et facteurs de risqué d’acquisition de staphylocoque résistants Med Mal infect 34 (suppl.2) P 179-183
48. **Leclercq R. ; 2008** : Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. Ann Fr Anesth Réanim. 21: 375-383.
49. **Leclere H, Gaillard J-L, Simont M, 1995** : Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien, Dain P 505-507

50. **Lepelletier.D, Ferréol.S, Villers.D, Richet.H ; 2004** : Infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline en réanimation médicale polyvalente : facteurs de risque, morbidité et impact économique ; Pathologie Biologie ; p 474-479
51. **Leporrier M, 2004** : le Flammarion médical, éditions Flammarion P 1-1366
52. **Lowy F.D.; 2003**: Antimicrobiol resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest. 111: 1265-1273.
53. **Mainardi-J-L.2011**- les glycopeptides : stop ou encore? Médecine interne.32.139-141
54. **Mastouri M, Nour M, Ben Nejma M, Bouallegue O. et al ; 2009** : Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. Pathol Biol; 54: 33–36
55. **Mazereeuw-Hautier.J ; 2006** : Impétigo ; Annales de Dermatologie et de Vénérologie
56. **Michel –L, Jean-LUC-P, Jean-Jacques.R, 2003** : dictionnaire médical à l’usage IDU, édition Lammarre : P 706
57. **Mougeot C, Guillaumat-Tailliet J, Libert J.M ; 2001** : *Staphylococcus aureus* : nouvelle détection de la résistance intrinsèque par la méthode de diffusion, pathologie biologie, N°49 P : 199-204
58. **Nauciel C ; 2005** : ABREGES connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2ème édition. MASSON, Paris. 83-85.S
59. **OMS : Ducel G, Fabry J, Nicolle L, 2008** : prévention des infections nosocomiales (guide pratique) 66p
60. **Pasteur L. ; 1877**. A propos de deux maladies soignées à l’hôpital Saint-Louis pour, pustule maligne
61. **Pittet.D, Genève et Sax.H, 2000** ; Alerte rouge: staphylocoques dorés de sensibilité diminuée à la vancomycine ; Bulletin Swissnoso
62. **Porriat.L, Glante Martin ; 2005** : principes de réanimation chirurgicale
63. **Potel.G et Baron D, 1990**: les infections a staphylocoque : aspect clinique et bactériologiques ; encyclopédie médicochirurgicale .P.1-8
64. **Prescott.L-M,Harly.T-P,Klein.D-A ;2003** : Microbiologie ,2ème édition, de Boeck.France.1137 P

65. **Quentin C ; Groboste F ; Fischer I, Dutilh B ; Brochet J.P ; Jullin J ; Lagrange I , Noury P , Larribet G ; Andre C ; Duponery S ; Boussinot D ; 2001** : résistance aux antibiotique de *S.aureus* en pratique de ville : étude sur six mois en aquitaine ; pathologie biologie N°49 P : 33-40
66. **Quevanvilliers J, Samongyi A et Fingerhuit A, 2004** : dictionnaire médical, 4eme édition, édition masson, paris
67. **Quincampoix J.C and Mainardi J.L ; 2001** : mécanismes de résistance des cocci a gram positif – réanimation N=10, 267-275
68. **Rahel.K., Benslimani A., Tali-maamer H., Kechih S., Bouner H., et Ammari H, 2011**:standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon la recommandation de l'OMS 6em Edition p.191
69. **Ramdani bouguessa.N, Seghier.M, Belouni.R, Benslimani.A ; 2008** : Manuel de microbiologie. Office des publications universitaires P : 277
70. **Ramdani-Bouguessa N, Bes M, Meugnier H, Forey F, Reverdy ME, Lina G, et al; 2006**: Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. Antimicrob Agents Chemother; 50:1083–5
71. **Seydi M, Sow AI, Soumaré M, Diallo HM, et al ;2004** : *Staphylococcus aureus* bacteremia in the Dakar Fann university hospital. Med Mal; 34:210–5
72. **Spicer W.J ; 2003** : Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences, P 28-29.
73. **Stahl J.P ;2006** :epidemiology, control and treatments of antimicrobial resistances :highlights of the 45 th ICAAC, Washington , 2005, Med Mam Infect 36:290-6
74. **Tattevin P : 2011** ; Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire
75. **Vandenesch F., Naimi T., Enright MC, Lina G., Nimmo GR. and Heffernan H., et al.; 2003**. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton Valentine leukocidin genes: World-Wide emergences. Emerg Infect Dis. 9 (8): 978-984.
76. **Vandepitte.J ; Engbzck.K; Piot.P ; Hench.C ; 1994** : Bactériologie clinique ; techniques de base pour le laboratoire

77. **Yvon Michel-Briand ; 2008** : une histoire de la résistance aux antibiotique à propos de six bactéries –l’harmattan P211
78. **Zribi M,Etienne ;Eleuchb ,zribi H, Bes M, Masmoudia,Osman , Fendria C ; 2009** :détection de la première souche de *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides à l’hôpital la Rabta de Tunis, pathologie biologie N=59 P :334-335
79. **Zygmunt DJ, Stratton CW, Kernodele DS, 1992** : characterization of four B-lactamines prodeded by *Staphylococcus aureus* antimicrob Agents chemother N=36, P:440-445

SITES D’INTERNET :

1. <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/presse/fiches-sur-les-maladies-infectieuses/staphylococcies>

Annexe 01

Matériel non biologique

Tableau XXVIII: Matériel, Fournitures et équipements de base d'un laboratoire de microbiologie

Matériel	Fournitures	Equipements de base
Autoclave Réfrigérateur Balance PH mètre Minuterie Bec bunsen Microscope optique avec objectifs a immersion Bain-marie Congélateur Hotte aspirante	Blouse de laboratoire Gants Liquide désinfectant Etiquette Marqueurs Serviette Savon pour les mains Anses, ciseaux et pinces Pipettes pasteur Collecteurs des objets coupants et aiguilles Pied à coulisse Portoir pour tube Loups Lames et lamelles Milieux de culture Huile à immersion Nettoyant pour lentilles optiques Distributeur de disque d'ATB	Bon éclairage électrique Gaz pour les becs Paillasse Lever et eau courante Eau distillé Eau physiologique


Tableau XXIX: Milieux de culture, et disques imprégnés

Milieux d'isolement	Milieux pour antibiogramme
Gélose nutritive Gélose Chapman GSF GSC	Gélose Mueller-Hinton Disques imprégnés Disques d'oxydase Disques d'antibiotiques

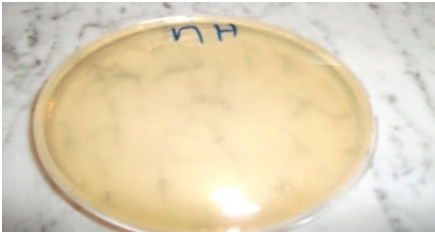
Annexe 02

Composition des principaux milieux de culture utilisés en g/l d'eau distillée.


Gélose Nutritive (GN):

Composition	Figure
<ul style="list-style-type: none">-peptone5g-extrait de viande 3g-gélatine.....13g <p style="text-align: center;">pH=6.8</p>	


Gélose Mueller-Hinton (MH) :

Composition	Figure
<ul style="list-style-type: none">-infusion de viande de bœuf300g-hydrolysate de caséine.....17.5g-amidon..... .1.5g-gélose..... 10g <p style="text-align: center;">pH= 7.4</p>	

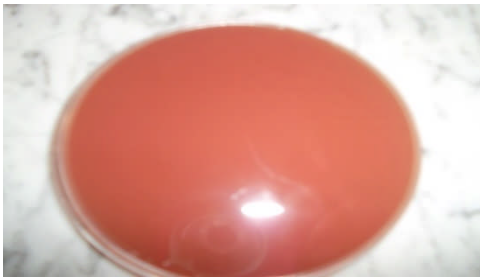
Gélose Chapman :

Composition	Figure
<ul style="list-style-type: none">-Extrait de viande de bœuf.....1g-Chlorure de sodium.....75g-Peptone.....10g-Mannitol.....10g-Rouge de phénol.....0.025g-Gélose.....15g <p style="text-align: center;">pH=7.4</p>	

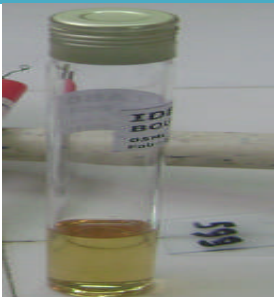
Gélose au Sang Frais :

Composition	Figure
<ul style="list-style-type: none">-infusion de cœur et muscle.....375g-biothicone.....10g-chlorure de sodium.....5g-gélose.....15g- Sang de mouton.....5% <p style="text-align: center;">pH=7.3</p>	

Gélose au Sang cuit :

Composition	Figure
<ul style="list-style-type: none">-polypeptone.....15g-amidon de maïs.....1g-phosphate dipotassique.....4g-phosphate monopotassique.....1g-chlorure de sodium.....5g-hémoglobine.....10g-gélose.....10g <p style="text-align: center;">pH=7.2</p>	

BGT (Bouillon glucosé tamponné)

Composition	Figure
<ul style="list-style-type: none">-peptone20g-extrait de viande.....2g-glucose.....4g-dihydrogénophosphate de potassium.0.7g-chlorure de sodium.....2.5g-hydrogénophosphate de sodium.....8.3g <p style="text-align: center;">pH=7.4</p>	

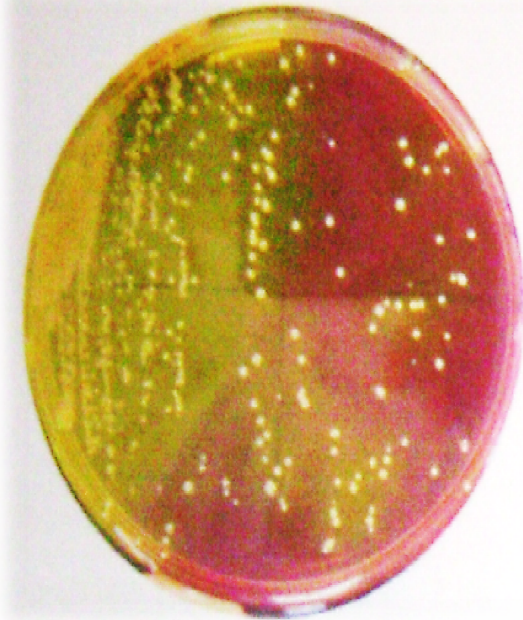
Annexe 03

TableauXXX: Liste des ATB utilisée pour les *staphylocoques*

Famille	ATB testées	Signe de disque	Charge du disque
B-lactamines :			
Pénicilline	Pénicilline	P	6 Ug
	Oxacilline	OXA	1Ug
Céphalosporines	Céfoxitine	FOX	30Ug
Aminosides :	Gentamycine	GM	10 UI
	Amikacine	AN	30 Ug
	Kanamycine	K	30 Ug
	Tobramycine	TOB	
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30 UI
Macrolides	Erythromycine	E	15 Ug
	Clindamycine	CM	2 UI
	Pristinamycine	PT	15 Ug
Quinolones :	Ofloxacine	OFX	5 Ug
	Ciprofloxacine	CIP	5 Ug
	Levofloxacine	LVX	
Glycopeptides :	Vancomycine	VA	30 Ug
Divers :	Rifampicine	RA	5 Ug
	Acide Fusidique	FA	10 Ug
	Cotrimoxazole	SXT	1.25/23.75 Ug

Annexe 04

Aspects de *S.aureus* sur différents milieux de culture



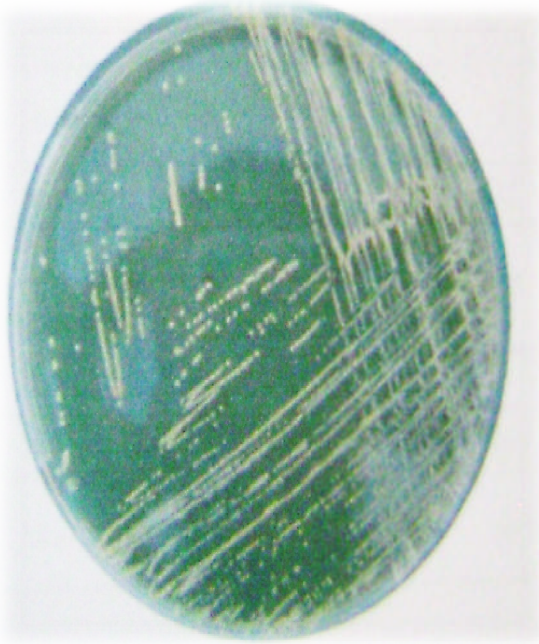
Aspects de *S.aureus* sur milieu Chapman



Aspects de *S.aureus* sur gélose au sang cuit



Aspects de *S.aureus* sur gélose au sang frais



Aspects de *S.aureus* sur gélose nutritive

Annexe 05

Table de lecture : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp (réf : 68)

Antibiotique testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (ug/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline	10UI	28	---	29	0.25	-----	0.12
Oxacilline (<i>S.aureus</i>)	1µg	10	11-12	13	4	-----	2
Oxacilline (<i>S.lugdunensis</i>)	1µg	----	-----	----	4	-----	2
Cefoxitine (<i>S.aures et S.lugdunensis</i>)	30µg	21	---	22	8	-----	4
Oxacilline (SCN sauf <i>S.lugdunensis</i>)	1µg	----	---	-----	0.5	-----	0.25
Cefoxitine (SCN sauf <i>S.lugdunensis</i>)	30ug	24	---	25	---	---	---
Gentamicine	10 µg	12	13-14	15	16	8	4
Kanamycine	30 µg	13	14-17	18	64	32	16
Amikacine	30 µg	14	15-16	17	64	32	16
Erythromycine	15 µg	13	14-22	23	8	1-4	0.5
Clindamycine	2 µg	14	15-20	21	4	1-2	0.5
Vancomycine	CMI	---	---	----	32	8.16	4
Teicoplanine	30 µg	10	11-13	14	32	16	8
Ofloxacine	5 µg	14	15-17	18	4	2	1
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	10	11-15	16	4/76	-----	2/38
Rifampicine	5 µg	16	17-19	20	4	2	1
Tétramycine	30 µg	14	15-18	19	16	8	4
Chloramphénicol	30 µg	12	13-17	18	32	16	8
Pristinamycine	15 µg	≤19	19-21	≥ 22	≥ 2		≤ 1
Acide fusidique	10 µg	≤ 24	-----	≥ 24	≥ 1		≤ 1
Fosfomycine	50 µg	≤ 14	-----	≥ 14	≥ 32		≤ 32

Annexe 06

Tableau XXXI: Répartitions des souches de *S.aureus* selon les patients externes et hospitaliers

Origine	Nombre	Pourcentage (%)
Hospitalisés	98	89,91
Externes	11	10,09
Total	109	100

Tableau XXXII: Répartition des souches de *S. aureus* selon le sexe

Sexe	Effectifs	Pourcentage (%)
Masculin	55	57,61
Féminin	42	42,39
Total	96	100

Tableau XXXIII: Répartition des souches de *S. aureus* selon l'âge

L'âge	Effectifs	Pourcentage (%)
N-nés – 2ans	7	6,06
2 ans -15ans	15	18,18
15 ans – 30 ans	10	10,61
30 ans – 45 ans	16	19,70
Plus que 45 ans	33	45,45
Total	81	100

Tableau XXXIV: Répartition des patients selon la pathologie (n=109)

	Nombre de <i>S.aureus</i>	% de <i>S.aureus</i>
Infections cutanée et tissus mou	58	53,21
Bactériémie	15	13,76
Infections ostéo-articulaires	10	9,17
Infections broncho-pulmonaire	8	7,34
Matériel	4	3,67
Infections ORL	3	2,75
Infections urogénital	3	2,75
Infections oculaire	2	1,83
Endocardite	1	0,92
Méningite	1	0,92
Autres	4	3,67
Total	109	100

Annexe 07

Tableau XXXV: Techniques utilisées pour la recherche de la résistance à l'oxacilline

	Technique	Inoculum	Milieu	T° incubation	Durée d'incubation
Céfoxitine (30ug) Oxacilline (1ug)	Diffusion du disque en milieu gélosé	0.5 McFarland	MH	33-35°C	16-18h
Screening test Oxa	Dilution en milieu gélosé : 6mg/l	0.5 McFarland	MH+4% NaCl	33-35°C	24h
CMI Oxa	Dilution en milieu gélosé ou liquide ou E-test	0.5 McFarland dilué 1/10ème	-	-	-
PLP2a	Selon les recommandations fabricant	-	-	-	-
Recherche de gène mecA	PCR	-	-	-	-

Tableau XXXVI: Interprétation des tests de recherche de la résistance à l'oxacilline

Les tests	<i>S.aureus</i>
Céfoxitine (30ug)	≤ 21 mm
Oxacilline (1ug)	≤ 12mm Résistant
Screening test Oxa	≥ 1 colonie = résistant
CMI Oxa	≤ 2 - ≥ 4
PLP2a	Agglutination : PLP2a (+) Absence d'agglutination : PLP2a (-)
Recherche de gène mecA	PCR