

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB – BLIDA 1

Faculté des Sciences De la Nature et de la Vie
Département de Biologie
Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

THÈSE DE DOCTORAT 3^{ème} Cycle LMD
En Biologie
Spécialité : Microbiologie

RESISTANCE AUX ANTIMICROBIENS ET PROFIL MOLECULAIRE CHEZ
Staphylococcus aureus

Par

LACEB MENTFAKH Zahoua

Soutenue le 21 septembre 2024

Devant le jury composé de :

M ^{me} SAIDI F.	Professeure, USD Blida1	Présidente
M ^{me} MOHAMED MAHMOUD F.	MCA, USD Blida1	Examinatrice
M ^{me} DEBID A.	Professeure, Université de Tipaza	Examinatrice
M ^{me} HAMAIDI-CHERGUI F.	Professeure, USD Blida1	Directrice de thèse

Blida, 2024

RÉSUMÉ

Cette étude avait pour objectif de déterminer la prévalence de *Staphylococcus aureus* dans un environnement hospitalier ainsi que le portage nasal chez les patients et le personnel médical d'un hôpital à la Wilaya d'Oran dans l'ouest algérien. De plus, elle visait à examiner la résistance bactérienne et la virulence des souches isolées, ainsi qu'à identifier les gènes associés.

Au total, 550 prélèvements ont été collectés sur des surfaces hospitalières, du matériel biomédical, ainsi que dans les narines des patients et du personnel médical, révélant la présence de 92 souches de *Staphylococcus aureus*. Des tests d'antibiogramme ont été réalisés sur ces souches, suivis d'une recherche par Polymerase Chain Reaction des gènes de résistance à la méthicilline, à la clindamycine inducible, ainsi que des gènes codant pour les toxines Leucocidine de Panton-Valentine et Toxic Shock Syndrome Toxin-1.

Ces analyses ont révélé la présence de 22 souches présentant une résistance à la méthicilline et/ou à la clindamycine inducible, qui ont ensuite été soumises à un séquençage complet du génome, suivi de l'élaboration d'un pangénome pour identifier les clusters au sein de la collection bactérienne.

Les résultats ont montré des prévalences de 27%, 30% et 13% de *Staphylococcus aureus* (dont 2,7%, 5% et 1,25% de SARM) chez les patients, le personnel soignant et dans l'environnement hospitalier, respectivement. Les gènes *mecA*, *erm*, *pvl* et *tsst-1* ont été détectés dans 10,9%, 17,4%, 7,6% et 18,5% des échantillons, respectivement. Le séquençage a permis d'identifier sept types de séquences, notamment trois SARM-IV-ST6, deux SARM-IV-ST80-PVL+, deux SARM-IV-ST22TSST-1, deux SARM-V-ST5 et un SARM-IV-ST398, ainsi que de nombreux gènes de virulence. L'analyse pangénomique a révélé une parenté entre des souches provenant de différentes sources.

Mots clés : Algérie ; macrolide lincosamide streptogramine B; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline; virulence.

ABSTRACT

This study aimed to determine the prevalence of *Staphylococcus aureus* in a hospital environment as well as nasal portage in patients and medical staff of a hospital in Oran, in the west of Algeria. In addition, it aimed to examine bacterial resistance and virulence of isolated strains, as well as to identify associated genes.

A total of 550 samples were collected from hospital surfaces, biomedical equipment, and the nostrils of patients and medical staff, revealing the presence of 92 strains of *Staphylococcus aureus*. Antibiogram tests were performed on these strains, followed by Polymerase Chain Reaction research of methicillin, inducible clindamycin resistance genes, as well as genes encoding Panton-Leucocidine toxins Valentine and Toxic Shock Syndrome Toxin-1.

These analyses revealed the presence of 22 strains with resistance to methicillin and/or inducible clindamycin, which were then subjected to complete genome sequencing, followed by the development of a pangenoma to identify clusters within the bacterial collection.

The results showed prevalence of 27%, 30% and 13% of *Staphylococcus aureus* (including 2.7%, 5% and 1.25% MRSA) in patients, caregivers and in the hospital environment, respectively. The *mecA*, *erm*, *pvl* and *tsst-1* genes were detected in 10.9%, 17.4%, 7.6% and 18.5% of the samples, respectively. Sequencing identified seven sequence types, including three SARM-IV-ST6, two SARM-IV-ST80PVL+, two SARM-IV-ST22-TSST-1, two SARM-V-ST5 and one SARM-IV-ST398, as well as numerous virulence genes. Genome-wide analysis revealed a relationship between strains from different sources.

Key words: Algeria; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; macrolide lincosamide streptogramin B; *Staphylococcus aureus*; virulence.

المخلص

كان هدف هذه الدراسة تحديد معدل انتشار بكتيريا *Staphylococcus aureus* في بيئة المستشفيات، بالإضافة إلى حملها في الأنف لدى المرضى والطاقم الطبي في أحد مستشفيات ولاية وهران، غرب الجزائر. كما هدفت إلى دراسة مقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية وشدة ضراوة السلالات المعزولة، بالإضافة إلى تحديد الجينات المرتبطة بها. تم جمع ما مجموعه 550 عينة من أسطح المستشفى، والمعدات الطبية الحيوية، وكذلك من أنوف المرضى والطاقم الطبي، وكشفت النتائج عن وجود 92 سلالة من *Staphylococcus aureus*. أجريت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية على هذه السلالات، تلتها اختبارات بحث عن طريق تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) للجينات المقاومة للميثيسيلين، والكليندامايسين الاستقرائي، وكذلك للجينات التي ترمز للسموم: لوكوسيديين بانتون-فالنتين وسم الصدمة التسممية-1. كشفت هذه التحاليل عن وجود 22 سلالة مقاومة للميثيسيلين و/أو للكليندامايسين الاستقرائي، وتم إخضاعها لتسلسل جيني كامل، تلاه بناء جينوم شامل (pangenome) لتحديد التجمعات الجينية داخل المجموعة البكتيرية. أظهرت النتائج معدلات انتشار قدرها 27%، 30% و 13% لبكتيريا *Staphylococcus aureus* (منها 2.7%، 5% و 1.25% لسلالات مقاومة للميثيسيلين MRSA) بين المرضى، الطاقم الطبي، والبيئة الاستشفائية على التوالي. كما تم الكشف عن الجينات *erm*، *mecA* و *pvl* و *tsst-1* في 10.9%، 17.4%، 7.6% و 18.5% من العينات على التوالي. سمح التسلسل الجيني بالتعرف على سبعة أنماط تسلسلية، منها ثلاث سلالات MRSA-IV-ST6، وسلالتان MRSA-IV-ST80-PVL+، وسلالتان MRSA-IV-ST22-TSST-1، وسلالتان MRSA-V-ST5، وسلالة واحدة MRSA-IV-ST398، بالإضافة إلى العديد من جينات الضراوة. وكشفت دراسة الجينوم الشامل عن وجود علاقة قرابة بين سلالات مصدرها مختلف.

الكلمات المفتاحية: الجزائر؛ ماكروليد – لينكوزاميد – ستربتوجرامين B؛ *Staphylococcus aureus*؛ المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين؛ الضراوة.

Dédicaces

الحمد لله الذي ما ضيع لي تعب ولا خيب لي سعي ولا نقص لي مجهود ولا ثبط لي حلم كان الله معي ولا زال في كل سعي
ورى النجاح الحمد لله حتى ترضى وإذا رضيت وبعد الرضا.

Avec une émotion particulière je souhaite dédier ce travail ..

À la mémoire de ma grand-mère qui est partie très tôt en emportant avec elle une partie de moi, ma YEYA aujourd'hui tu n'es plus là mais je sais que tu es fière de ce que ta petite fille est devenue ..

À mes autres grands parents qui sont partis trop tôt mais que j'aime énormément ..

À mes chers parents.. depuis que j'ai ouvert les yeux je vous ai trouvé à mes côtés pour ne plus me laisser .. Je vous ai vu chaque jour vous sacrifier pour moi..
Aujourd'hui j'aimerais vous remercier pour votre amour, pour votre soutien inconditionnel, pour votre protection et pour vos encouragements sans limites .. Cette réussite est la vôtre plus que la mienne et je vous en serais à tout jamais reconnaissante ..

À ma sœur Lydia, ma plus grande supportrice .. Comment te remercier alors que je te dois tout, tu as toujours été là pour moi, en me faisant même passer avant toi..

À mes frères Anis et Karim, mes piliers et mes protecteurs ..

À ma petite famille, mon conjoint Adel qui a autant fait que moi pour que cette thèse voit le bout du tunnel.. Merci d'avoir cru en moi quand moi j'en doutais, merci de m'avoir accompagné à chaque étape du chemin et merci d'avoir été très compréhensif .. À ma douce Sofia, tu es venue au monde et tu as été pour mon cœur comme un baume, tu es venue soulager ma solitude et remplir ma vie d'amour

..

À mes meilleures amies Bisma et Yousra, vous êtes les amies d'une vie ..

À mon beau-frère Anis qui a toujours répondu présent pour m'aider ..

À mes beaux-parents qui m'ont soutenu ..

À toi Waafa ma meilleure rencontre depuis que je suis en thèse, même un journal ne suffirait pas pour exprimer ma gratitude envers toi. Je suis arrivée à Marseille toute seule puis un jour une boule d'énergie est venue vers moi pour m'ouvrir son grand cœur. Tu as été là pendant mes plus durs moments comme tu as partagé avec moi mes plus beaux moments. Je te remercie d'avoir été comme une sœur quand je pensais être seule loin de mes proches, je te remercie de m'avoir ouvert ta porte comme ton cœur ..

À toutes les autres belles personnes que j'ai connues à l'IHU, Yasmine HASSANI qui m'a toujours motivée et avec qui j'ai énormément partagé. À la JMR TEAM, la meilleure des équipes, une équipe qui a su me mettre à l'aise dès mon premier pas au laboratoire. Je vous remercie pour votre bienveillance et pour tous les beaux moments que nous avons partagés...

À mes coéquipières Radja et Ryma avec qui j'ai partagé beaucoup de choses lors de ces années de thèse...

À tous ceux qui, de loin ou de près, même par un mot ont participé à ma réussite...

Avec tout mon amour et ma gratitude..

Remerciements

J'aimerais commencer par exprimer ma profonde gratitude à ma directrice de thèse Pr. Hamaidi Chergui Fella, pour avoir supervisé ma thèse, pour sa disponibilité et pour le courage qu'elle m'a donné depuis le début. Tout au long de ce travail, elle a été là pour m'écouter et pour m'encourager quand parfois je n'avais plus de force.

Je tiens à remercier notre directrice de laboratoire Pr. Saidi Fairouz pour ses encouragements et son soutien depuis le début de mon parcours universitaire.

Toute ma reconnaissance à l'IHU de Marseille. Cette thèse de doctorat n'aurait pas pu voir le jour sans la précieuse collaboration et le soutien de Pr. Jean Marc Rolain.

Je le remercie de m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche et de m'avoir encadrée et fournie tout le nécessaire pour réaliser un travail de qualité. Pareillement je remercie à Dr. Hadjadj Linda et Diene Seydina qui ont toujours répondu présents pour m'aider et ont beaucoup fait pour moi.

Je voudrais aussi exprimer ma gratitude à Pr. Didier Raoult de m'avoir donné la chance d'intégrer son institut de recherche.

Je tiens à remercier également Pr. Kihal Mabrouk qui m'a ouvert les portes de son laboratoire pour réaliser la première partie de mes travaux et à Nawal l'ingénieure de laboratoire, qui quant à elle n'a pas hésité à m'accorder le matériel disponible nécessaire à mes travaux.

Mes remerciements vont également aux membres du jury, Pr. Saidi, Pr. Dabib et Dr. Mohamed Mahmoud qui ont bien voulu me donner de leur temps et m'honorer de leur participation afin de parfaire ce travail de recherche.

Je remercie tous les professeurs et collègues du département de Biologie de l'université de Blida 01.

TABLE DES MATIERES

RESUME
ABSTRACT

الملخص

DEDICACE

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

Liste des figures et tableaux

ABREVIATIONS

INTRODUCTION.....	01
CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>.....	05
1.1.1. Taxonomie.....	05
1.1.2. Habitat.....	07
1.1.3. Caractères bactériologiques.....	07
1.1.4. Facteurs de virulence.....	09
1.1.4.1. Toxines.....	09
1.1.4.2. Biofilms.....	13
1.1.4.3. Proteines de surface.....	14
1.1.4.4. Enzymes.....	14
1.1.4.5. Facteurs protégeant la bactérie de la phagocytose.....	17
1.1.5. Génétique et régulation de la virulence.....	18
1.2. Typage de <i>S. aureus</i>.....	20
1.2.1. Stratégies de typage de <i>S. aureus</i>	20
1.3. Antibiorésistance.....	27
1.3.1. Définition du terme antibiotique.....	27
1.3.2. Acquisition des mécanismes de résistance.....	27
1.3.3. Évolution de l'antibiorésistance chez <i>S. aureus</i>	27
1.3.4. Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	28
1.4. Infections, Environnement hospitalier et Épidémiologie de <i>S. aureus</i> et du SARM.....	37
1.4.1. Infection nosocomiale.....	37
1.4.2. Environnement hospitalier : un réservoir de bactéries.....	39
1.4.3. Colonisation par <i>S. aureus</i>	41
1.4.4. <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline.....	45
CHAPITRE 2: ETUDE EXPERIMENTALE	
2.1. Cadre de l'étude.....	48
2.2. Collecte d'échantillons et de données.....	49
2.2.1. Distribution de la population étudiée selon le service d'admission.....	50

2.2.2. Caractérisation du personnel soignant.....	50
2.2.3. Caractérisation de l'environnement prélevé.....	50
2.3. Étude bactériologique.....	51
2.3.1. Prélèvements.....	51
2.3.2. Mise en culture.....	52
2.3.3. Identification des colonies.....	52
2.4. Examen macroscopique.....	52
2.5. Coloration de Gram et examen microscopique	53
2.6. Identification biochimique.....	53
2.6.1. Test de catalase.....	53
2.6.2. Test de coagulase libre.....	54
2.6.3. Test de Désoxyribonucléase.....	54
2.6.4. Test d'agglutination au latex par PASTOREX STAPH PLUS.....	55
2.7. Conservation et repiquage des souches.....	55
2.7.1. Conservation des souches.....	55
2.7.2. Repiquage des souches.....	56
2.8. Identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	56
2.8.1. Principe de MALDI-TOF	56
2.8.2. Protocole d'identification par MALDI-TOF.....	58
2.9. Étude de la sensibilité aux antibiotiques	60
2.9.1. Antibiogramme.....	60
2.9.2. Multiexperiment Viewer.....	61
2.9.3. Détection phénotypique de la résistance inductible à la clindamycine..	61
2.10. Étude moléculaire et recherche des gènes.....	62
2.10.1. Extraction de l'ADN à partir des cultures bactériennes.....	62
2.10.2. Polymerase Chain Reaction.....	63
2.10.3. PCR standard (PCR conventionnelle).....	66
2.11. Séquençage du génome entier.....	66
2.11.1. Extraction de l'ADN.....	66
2.11.2. Next Generation Sequencing.....	68
2.11.3. Description génomique.....	68

CHAPITRE 3: RÉSULTATS

3.1. Caractérisation de la population étudiée.....	70
3.1.1. Distribution des patients selon le sexe.....	70
3.1.2. Distribution des patients selon leur tranche d'âge.....	70
3.1.3. Antécédents pathologiques chez la population étudiée.....	71
3.2. Identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	71
3.3. Fréquence des SARM.....	72
3.4. Portage de <i>S. aureus</i> dans les fosses nasales.....	74
3.4.1. Chez les patients.....	74

3.4.2. Chez le personnel médical.....	77
3.5. Prévalence de <i>S. aureus</i> dans l'environnement hospitalier (surfaces et matériel biomédical)	78
3.6. Résistance aux antibiotiques.....	81
3.6.1. Caractérisation phénotypique	81
3.7. Caractérisation moléculaire de la résistance microbienne.....	83
3.7.1. Résultats des réactions PCR.....	83
3.7.2. Résultat du séquençage du génome entier.....	87
3.8. Facteurs de virulence.....	90
3.8.1. Résultats des réactions PCR.....	90
3.9. Résultat du séquençage du génome entier	92
3.10. Dendrogramme des isolats de <i>S. aureus</i>	92
3.11. Pangénome des souches séquencées.....	95
3.12. Autres paramètres identifiés par le Next Generation Sequencing.....	97
3.12.1. Taille des génomes.....	97
3.12.2. Coefficient de Chargaff.....	97
CHAPITRE 4: DISCUSSION	
CONCLUSION GENERALE.....	112
ANNEXES	
RÉFÉRENCES	

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. <i>S. aureus</i> teinté au Gram x1000.....	08
Figure 1.2. Modèle de la façon dont la PVL pourrait causer la nécrose tissulaire.....	12
Figure 1.3. Exemple d'amplification et de détection d'un acide nucléique cible par PCR en temps réel.....	23
Figure 1.4. Schématisation du principe de la PCR standard.....	24
Figure 1.5. Principe du séquençage Illumina.....	26
Figure 1.6. Mécanismes de résistance les plus importants chez <i>S. aureus</i>	29
Figure 1.7. Structure de la cassette SCCmec.....	31
Figure 1.8. Production d'Erm méthylase par <i>S. aureus</i> est régulée au niveau translationnel.....	34
Figure 1.9. Mécanisme de l'infection de l'agent pathogène.....	40
Figure 1.10. Représentation du portage de <i>S. aureus</i> chez l'homme sain.....	43
Figure 2.1. Étapes de la démarche expérimentale	48
Figure 2.2. Principe de la spectrométrie de masse	58
Figure 2.3 Spotage des colonies et préparation de la plaque.....	61
Figure 2.4. Insertion de la cible MALDI-TOF.....	62
Figure 2.5. Acquisition des résultats en temps réel (spectres).....	63
Figure 2.6. Antibiogramme sur Scan® 4000 (Interscience).....	65
Figure 2.7. Schématisation des phénotypes iMLSB résultants du test D.....	65
Figure 3.1. Distribution des patients selon leur âge.....	71
Figure 3.2. Résultats de l'identification des SARM.....	74
Figure 3.3. Distribution de <i>S. aureus</i> selon les antécédents d'hospitalisation.....	77
Figure 3.4. Illustration des phénotypes de résistance des bactéries isolées.....	89
Figure 3.5. Résultat de la PCR en temps réel pour la recherche du mecA.....	83
Figure 3.6. Résultat de la PCR en temps réel pour la recherche du mecC.....	83
Figure 3.7. Résultat de la PCR en temps réel pour la recherche du SCCmec IV.....	84

Figure 3.9. Résultat de la PCR standard pour la recherche du ermT.....	85
Figure 3.10. Résultat de la PCR standard pour la recherche du ermA.....	86
Figure 3.11. Résultat de la PCR standard pour la recherche du ermC.....	86
Figure 3.12. Résultat de la PCR standard pour la recherche du msrA.....	87
Figure 3.13. Résultat de la PCR 01 standard pour la recherche du PVL	90
Figure 3.14. Résultat de la PCR 02 standard pour la recherche du PVL.....	91
Figure3.15. Résultat de la PCR 01 standard pour la recherche du TSST.....	91
Figure 3.16. Résultat de la PCR 02 standard pour la recherche du TSST.....	92
Figure 3.17. Dendrogramme des isolats de <i>S. aureus</i>	94
Figure 3.18. Analyse du pangénome des 22 isolats de <i>S. aureus</i> séquencés.....	96
Figure 3.19. Taille des génomes de <i>S. aureus</i> séquencés.....	97
Figure 3.20. Pourcentage de GC des souches séquencées	98

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Classification phénotypique des espèces et sous-espèces du genre <i>Staphylococcus</i>	06
Tableau 1.2. Caractères enzymatiques de <i>S. aureus</i>	09
Tableau 1.3. Protéines de surface exprimées par <i>S. aureus</i>	16
Tableau 1.4. Exemples d'éléments génétiques mobiles rencontrés dans le génome accessoire de <i>S. aureus</i>	19
Tableau 1.5. Principaux systèmes de régulation de la virulence de <i>S. aureus</i> ...	21
Tableau 1.6. Progression historique de l'antibiorésistance du staphylocoque doré.....	28
Tableau 1.7. Résistances microbiennes à d'autres familles d'ATB	36
Tableau 1.8. Types de bactéries avec leur durée de persistance dans l'environnement.....	42
Tableau 2.1. Détail de la répartition des échantillons environnementaux en fonction du site d'isolement et de la présence de <i>S. aureus</i> , SASM et SARM....	51
Tableau 2.2. Origines des souches séquencées	62
Tableau 2.3. Amorces utilisées dans la RT-PCR et leurs tailles.....	64
Tableau 2.4. Mélange réactionnel utilisé pour les RT-PCR.....	65
Tableau 2.5. Programme appliqué de la PCR standard.....	66
Tableau 2.7. Amorces utilisées dans la PCR Standard et leurs tailles.	67
Tableau 3.1. Distribution des patients selon le sexe et le groupe d'âge	70
Tableau 3.2. Antécédents pathologiques chez la population étudiée.....	71
Tableau 3.3. Résultats de l'identification des isolats de <i>S. aureus</i>	72
Tableau 3.4. Démonstration des phénotypes iMLSB résultants du test D.....	73
Tableau 3.5. Détails de la distribution des prélèvements des patients selon l'âge et le sexe des patients et selon le service dans lequel ils ont été hospitalisés et la présence de <i>S. aureus</i> , SARM et SASM.....	76
Tableau 3.6. Types et distribution des antécédents médicaux chez les patients porteurs de <i>S. aureus</i>	75
Tableau 3.7. Détails de la distribution des échantillons de travailleurs de la santé en fonction de leur rôle et de la présence de <i>S. aureus</i> , SARM et SASM	78
Tableau 3.8. Détails de la distribution des échantillons environnementaux en fonction du site d'isolement et de la présence de <i>S. aureus</i> , SASM et SARM.....	80
Tableau 3.9. Résistance des isolats aux ATB testés.....	81
Tableau 3.10 : Sous typage des cassettes SCCmec.....	88
Tableau 3.11 : Présence et distribution des gènes de résistance identifiés par WGS.....	89
Tableau 3.12 : Distribution des principaux gènes de virulence sur les 22 souches séquencées.	93

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

Staphylococcus aureus : *S. aureus*

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline : SARM

Staphylococcus aureus sensible à la méticilline : SASM Antibiotique : ATB

Panton Valentine Leukocidin : PVL

Toxine-1 du syndrome de choc toxique : TSST-1

Inductible Macrolide-lincosamide-streptogramine B : iMLSB

Séquençage complet du génome WGS

Modules solubles phénols : PSM

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline d'une acquisition communautaire: SARM CA

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline d'une acquisition en milieu hospitalier:SARM- HA

BORSA : Borderline Oxacillin Resistant *S. aureus*

MODSA : Modified *S. aureus*

SCCmec : Cassette chromosomique staphylococcique mobile

ccr : Complexe génique des recombinaisons chromosomiques

PCR : Polymerase Chain Reaction

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ARN : Acide RiboNucléique

MSCRAMMs : Microbial Surface Components Recognising Adhesive Matrix Molecule.

ST : Séquence Type

MLST: Typage multi-locus

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

F: Forward

P: Probe

R: Reverse

Spa: Protéine staphylococcique A

MALDI TOF: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation/Time Of Flight

ID : identifiant

T : témoin

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif commensale de la peau et des fosses nasales des humains et des animaux. Cependant, lorsqu'elle se déplace vers d'autres parties du corps, cette bactérie peut s'adapter à l'environnement humain et hospitalier, provoquant ainsi diverses infections. Actuellement, le *staphylocoque* doré est largement reconnu comme l'une des principales causes d'infections, tant nosocomiales que communautaires. Ces infections incluent notamment les endocardites, les infections des tissus mous, les infections cutanées et les cas d'ostéomyélite [1], [2], [3].

La virulence de *Staphylococcus aureus* est largement liée à sa capacité de développer une résistance à divers antibiotiques, notamment la pénicilline, donnant naissance au *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline. L'apparition de ce dernier constitue une évolution préoccupante, initialement observée comme une infection nosocomiale dans les années 1960, avant de se propager dans la communauté dans les années 1980 [4], [5].

La clindamycine est souvent considérée comme l'une des rares options pour traiter la résistance émergente à la pénicilline chez le *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline. Toutefois, une utilisation inappropriée, notamment une utilisation excessive des antibiotiques à spectre étendu, a favorisé l'émergence de souches résistantes à ces traitements. Cette résistance accrue pose un nouveau défi dans le traitement des infections causées par les *staphylocoques* [6], [7].

Sa pathogénicité est également liée à un arsenal de facteurs de virulence, notamment des protéines de surface, des enzymes et des toxines telles que la Pantone-Valentine Leukocidine et la toxine-1 du syndrome de choc toxique [8],[9].

Staphylococcus aureus peut être retrouvé dans plusieurs sites du corps humain notamment les intestins, le tractus gastro-intestinal mais surtout dans le port nasal, qui demeure le principal site de colonisation par cette bactérie [10].

L'infection des patients colonisés joue un rôle crucial dans la transmission, notamment en raison de la fréquence élevée de la bactériémie postopératoire

résultant de la transmission préopératoire associée au portage nasal préopératoire

[11], [12], [13].

Les installations hospitalières peuvent également être significativement contaminées par *Staphylococcus aureus* en raison de sa colonisation des surfaces et des objets. Un avantage biologique notable de cette bactérie est sa capacité à survivre sur ces surfaces pendant des périodes prolongées, rendant ainsi les efforts d'éradication difficiles. Les environnements hospitaliers contaminés jouent ainsi un rôle significatif dans la propagation des infections nosocomiales, agissant comme un réservoir potentiel d'agents pathogènes [14], [15].

Les données sur la prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* en Afrique, ainsi que sur l'épidémiologie et la caractérisation des clones circulants, demeurent insuffisantes. Les études disponibles se concentrent principalement sur les pays développés et les protocoles de surveillance et de contrôle des infections qui y sont utilisés ne sont pas toujours adaptés à la réalité de nombreux pays africains [16], [17]. En effet, en Amérique et en Europe, de nombreuses données ont été rapportées sur la prévalence et l'épidémiologie du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. En revanche, en Afrique du Nord, ces informations sont limitées, bien que des études publiées aient documenté une augmentation de la prévalence du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline [9], [5], [18].

Les recherches scientifiques publiées en Algérie sur *Staphylococcus aureus* ont principalement ciblé les souches d'origine humaine. Cela inclut des souches isolées à partir d'échantillons cliniques, telles que celles étudiées par Ouidri et al. [19], Aouati et al. [20]., ou encore Achek et al. [4], ou bien des études réalisées sur le portage nasal du *S. aureus* comme celle de Djoudi et al. [21].

Des isolats provenant de produits alimentaires ont aussi fait l'objet d'investigations scientifiques en Algérie. Nous citerons les recherches de Titouche et al. [22] et de Chaalal et al. [23]. Agabou et al, ont étudié le *S. aureus* provenant de l'animal [24].

Une succession de souches épidémiques de SARM s'est propagée dans le monde entier, issue d'une variabilité génétique et d'une évolution constante des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline [1].

Le recours à la génomique constitue une méthode très efficace pour identifier, suivre l'évolution et étudier la diversité des clones chez *Staphylococcus aureus* ce qui fournit des informations sur son origine et la propagation du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline [25], [26].

Aucune caractérisation des isolats environnementaux n'avait été entreprise dans les études précédemment menées en Algérie. La seule étude antérieure visait à identifier les communautés bactériennes présentes sur les surfaces hospitalières, en se basant exclusivement sur des caractérisations biochimiques et des confirmations par l'analyse des séquences d'ARNr 16S. L'objectif de cette thèse doctorale est la représentation d'une première analyse exhaustive des souches de *Staphylococcus aureus* provenant de sources environnementales en Algérie. Il se démarque en étant le premier à explorer le profil inductible Macrolide-lincosamide-streptogramin B de ces souches et à utiliser le séquençage complet du génome sur une collection significative. L'objectif principal est de combler cette lacune en analysant en profondeur les souches environnementales dans un milieu hospitalier, en évaluant leur prévalence dans les milieux hospitaliers et en examinant leur résistance à différents antibiotiques. Grâce au séquençage du génome entier, cette étude permettra d'identifier les clones et de comprendre leur diffusion, fournissant ainsi des données cruciales sur l'épidémiologie du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en Algérie.

Pour la réalisation de cette thèse, nous avons tout d'abord évalué la fréquence de *Staphylococcus aureus* dans un environnement hospitalier et le port nasal chez les patients et le personnel soignant d'un hôpital dans l'ouest de l'Algérie. Ensuite, nous avons effectué une analyse phénotypique de la résistance à divers antibiotiques, ainsi qu'une recherche des gènes associés à la résistance à la méticilline et à la clindamycine. Par la suite, nous avons examiné la présence des gènes *pvl* et *tsst-1* chez tous les *Staphylococcus aureus*.

Les souches présentant un profil de résistance au *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ou un profil inductible Macrolide-lincosamide-

streptogramin B ont été soumises à un séquençage du génome entier, suivi d'une analyse pangénomique visant à identifier les clones et à établir des liens entre eux.

CHAPITRE 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Staphylococcus aureus

1.1.1. Taxonomie

La découverte de *S. aureus* a eu lieu à la fin du XIXe siècle, lorsque le célèbre médecin allemand Robert Koch (1843-1910) et le pionnier français de la microbiologie Louis Pasteur (1822-1895) ont observé pour la première fois des bactéries rondes assemblées en amas à partir de pus de furoncle. Alexander Ogston (1844–1929), un chirurgien écossais fit la même découverte en analysant un abcès purulent d'un de ses patients au niveau de son laboratoire. En 1884, Freiderich Rosenbach a donné au *S. aureus* un nom « le *staphylocoque doré* » en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique [27].

Au cours des années 60, une comparaison en GC% a permis la distinction entre deux genres *Micrococcus* et *Staphylococcus*. Ce qui a par la suite été confirmé durant les années 70 par l'étude de la composition des parois cellulaires et l'analyse de l'ARNr16S [28].

S. aureus est une bactérie classée dans le règne *Bacteria*, appartenant à l'embranchement *Firmicutes*, caractérisé par des bactéries à Gram positif. Elle se situe dans la classe *Bacilli*, ordre *Bacillales*, et famille *Staphylococcaceae*. Cette classification phylogénétique, appuyée par l'analyse de gènes conservés comme le 16S rRNA, permet de situer *S. aureus* dans l'évolution bactérienne et de le distinguer clairement des autres espèces du même genre [29].

La base de la classification des espèces staphylococciques repose sur la production de la coagulase libre (Tableau 1.1) qui est une enzyme de la coagulation du sérum humain. On distingue ainsi sept espèces et sous espèces à coagulase positive dont *S. aureus* et quarante-six à coagulase négative [3].

Tableau 1.1 : Classification phénotypique des espèces et sous-espèces du genre *Staphylococcus* [3].

Espèces et sous-espèces à coagulase positive	Espèces et sous-espèces à coagulase négative
<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>S. aureus</i> subsp. <i>Anaerobius</i> 2. <i>S. aureus</i> subsp. <i>Aureus</i> 3. <i>S. delphini</i> 4. <i>S. hyicus</i> 5. <i>S. intermedius</i> 6. <i>S. lutrae</i> 7. <i>S. schleiferi</i> subsp. <i>Coagulans</i> 	<ol style="list-style-type: none"> 8. <i>S. auricularis</i> 9. <i>S. capitis</i> subsp. <i>Capitis</i> 10. <i>S. capitis</i> subsp. <i>Ureolyticus</i> 11. <i>S. caprae</i> 12. <i>S. carnosus</i> subsp. <i>Carnosus</i> 13. <i>S. carnosus</i> subsp. <i>Ulitis</i> 14. <i>S. cohnii</i> 15. <i>S. condiment</i> 16. <i>S. epidermidis</i> 17. <i>S. felis</i> 18. <i>S. haemolyticus</i> 19. <i>S. hominis</i> subsp. <i>Hominis</i> 20. <i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i> 21. <i>S. kloosii</i> 22. <i>S. lentus</i> 23. <i>S. lugdunensis</i> 24. <i>S. massiliensis</i> 25. <i>S. muscae</i> 26. <i>S. nepalensis</i> 27. <i>S. pasteurii</i> 28. <i>S. piscifermentans</i> 29. <i>S. rostri</i> 30. <i>S. saprophyticus</i> 31. <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i> 32. <i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i> 33. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i> 34. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>Rodenum</i> 35. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i> 36. <i>S. simulans</i> 37. <i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i> 38. <i>S. succinus</i> subsp. <i>succinus</i> 39. <i>S. vitulinus</i> 40. <i>S. warneri</i> 41. <i>S. xylosus</i> 42. <i>S. sciuri</i> subsp. <i>lentus</i> 43. <i>S. pseudoxylosus</i> 44. <i>S. pulvereri</i>

1.1.2. Habitat

Staphylococcus représente un large genre de bactéries Gram-positives qui colonisent la peau et les muqueuses des humains et de la plupart des mammifères

[30]. Chez l'Homme, ils constituent environ la moitié des bactéries aérobies isolées des aisselles, la tête, les jambes, les bras et les narines jouant un rôle essentiel dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constitue une barrière contre les bactéries de la flore transitaire [31]. Leur distribution sur la peau n'est pas uniforme. L'habitat préférentiel de *S. aureus* est la muqueuse nasale où il colonise environ 30% de la population humaine dans les narines antérieures, de manière transitoire, ou persistante et peut donc également être considéré comme un commensal humain

[32].

Ils sont largement présents dans l'environnement, retrouvés dans l'air, le sol, l'eau, les aliments et dans certains produits alimentaires comme les laitages et les conserves salées [33], [34].

1.1.3. Caractères bactériologiques

a. Caractères morphologiques

Sous microscope, les *staphylocoques* se présentent sous l'aspect de cocci de Gram positif de 0,8 à 1µm de diamètre, regroupés en diplocoques, en courtes chainettes de trois à cinq éléments ou souvent en petits amas (grappes de raisins) comme indiqué sur la Figure 1.1. Cette disposition considérée comme une caractéristique des *staphylocoques* et expliquée par la division cellulaire de ces bactéries en trois plans perpendiculaires et successifs les uns aux autres et par le fait que les cellules filles ne se séparent pas complètement de la cellule mère dont elles proviennent [35], [36].

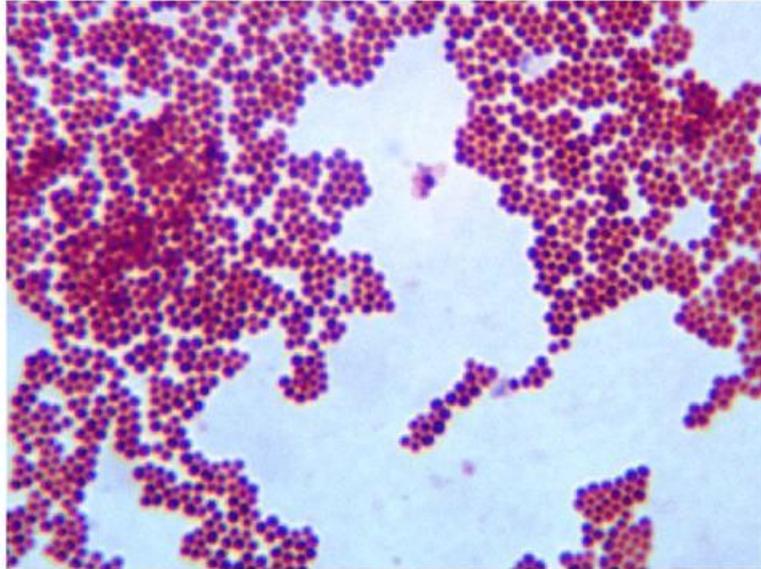


Figure 1.1 : Observation microscopique des *S. aureus* lors d'une coloration au Gram (G x 1000) [37].

b. Caractères cultureux

S. aureus est une bactérie aéro-anaérobie facultative peu exigeante sur le plan nutritif et tolère de grandes variations environnementales. Cette bactérie peut être cultivée sur divers milieux, tels que la gélose nutritive, le bouillon nutritif, la gélose au sang et le milieu sélectif Chapman. Ses conditions de croissance optimales sont une température de 37°C, correspondant à la température corporelle humaine, et un pH neutre d'environ 7. Bien que *S. aureus* ne soit pas strictement halophile, elle peut se développer à des concentrations de 75% de NaCl. En ce qui concerne, la résistance aux inhibiteurs bactériens, elle peut présenter une certaine tolérance au cristal violet et au tellurite de potassium, bien que cette résistance puisse varier en fonction de divers facteurs [38], [39].

c. Caractères enzymatiques et biochimiques

De nombreuses études ont permis de dresser le profil biochimique de *S. aureus*. La quasi-totalité des souches de *S. aureus* produisent une coagulase, protéine-enzyme considérée comme facteur de virulence important permettant de différencier les *Staphylococcus* à Coagulase Positive des *Staphylococcus* à Coagulase Négative. Les autres principaux caractères biochimiques prennent en compte la production de catalase permettant de différencier les *staphylocoques*

des streptocoques, le métabolisme des sucres et la production d'arginine dihydrolase. Le Tableau 1.2 dans la section 1.1.4 récapitule la plupart de ces caractéristiques.

1.1.4. Facteurs de virulence

1.1.4.1. Toxines

a. Alpha-hémolysine ou alpha-toxine staphylococcique

Probablement la plus connue des toxines de *S. aureus*, cette toxine lyse les globules rouges et certains leucocytes mais elle n'est pas lytique aux neutrophiles. Elle possède 293 acides aminés responsables de la formation d'un pore heptamère conduisant à l'efflux d'ions ce qui cause une perturbation des adhérences, particulièrement le clivage de l'E-cadhérine dans les cellules épithéliales qui entraîne une perte de la fonction de la barrière épithéliales. Cette toxine est aussi la cause de l'apoptose des monocytes humains et des lymphocytes T et B (40,41,42).

Tableau 1.2 : Caractères enzymatiques de *S. aureus* [43].

Caractère	<i>S. aureus</i>
Oxydase	-
Catalase	+
Furanes	Sensible
Coagulase libre	+
DNAse	+
Coagulase liée	+

b. Beta-hémolysine

La β -hémolysine forme une sphingomyélinase neutre hydrolysant la sphingolipide, qui est un lipide de membrane plasmique et ne forme pas de pores dans la membrane plasmique. La sphingomyéline est enrichie en microdomaines membranaires ordonnés par des lipides avec une teneur élevée en cholestérol. Le traitement de la sphingomyélinase des rafts conduit à l'agrégation de microdomaines riches en cholestérol, ce qui suggère que la mort cellulaire peut résulter de la modification de la fluidité de la membrane plasmique des cellules hôtes et de la déstabilisation de la structure bicouche. Alternativement, la mort cellulaire pourrait résulter de la formation de grandes plates-formes de signalisation riches en phosphoéthanolamines [44].

c. Delta-hémolysine ou delta-toxine

La toxine δ de *S. aureus* est un membre d'une famille de peptides sécrétés appelés modules solubles phénols (MSP), ayant une fonction multiple dans la pathogenèse *staphylocoque*. Certains MSP ont une activité cytolytique prononcée et non spécifique. De grandes quantités de MSP fortement cytolytiques peuvent être produites par *S. aureus* ; en particulier les peptides MSP α MSP α 1 - α 4 codés dans le locus *mSPA*, dont MSP α 3. Elles sont responsables du déclenchement des réponses inflammatoires par interaction avec le récepteur FPR2 et ils ont une activité cytolytique qui est complètement indépendante de FPR2 [45], [46], [47]. Ces dernières années, les peptides MSP α ont été évoqués dans la lyse des neutrophiles après la phagocytose, ce qui est considéré comme un facteur de pathogenèse d'une grande importance et d'agressivité en termes de toxicité. La δ -toxine contribue également à la dermatite atopique de la maladie allergique de la peau en induisant la dégranulation des mastocytes [48], [49], [50], [51].

d. Gama-hémolysine

La gamma-hémolysines HlgA et HlgC/HlgB. Ce cluster de gènes *hlg* codant pour l'hémolysine- γ (Hlg) et l'hémolysine- γ 2 (Hlg2) est situé dans le génome central. Ce groupe est présent dans presque toutes les souches de *S. aureus*. Ces toxines jouent un rôle dans l'arthrite septique et pourraient aider le

SARM acquis dans la communauté (SARM-CA) à survivre dans le sang humain pendant l'infection [52].

e. Leucocidine de Panton et Valentine

Considérée comme la leucotoxine la plus connue, elle confère cytotoxicité aux neutrophiles et aux monocytes-macrophages, ce qui entraîne un degré élevé de virulence. LukS-/LukF-PV sont encodés dans les phages lysogènes comme la ϕ Sa, cette organisation génétique implique un transfert horizontal facile des gènes *pvl* dans les espèces des *Staphylocoques*. Les isolats PVL+ sont responsables des abcès, furoncles ou fasciite nécrosante et sont généralement liée à des souches du clone ST80-SARM [53].

Comme illustré sur la Figure 1.2, le mécanisme d'action de LukS-PV et LukFPV représentent les deux composants de la PVL. Ces deux derniers sont sécrétés par *S. aureus* avant de se rassembler en un heptamère formant des pores sur les membranes PMN. Des concentrations élevées de PVL provoquent une lyse du PMN, tandis que de faibles concentrations médient une nouvelle voie d'apoptose du PMN en se liant directement aux membranes mitochondriales. La nécrose tissulaire pourrait résulter de la libération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) des PMN lysés. Alternativement, la libération de la teneur en granules des PMN lysées pourrait déclencher une réponse inflammatoire, entraînant éventuellement une nécrose tissulaire. Il est peu probable que la PVL ait un effet nécrotique direct sur les cellules épithéliales [54].

f. Entérotoxines

Les entérotoxines perturbent le fonctionnement intestinal, entraînant généralement des symptômes tels que des vomissements et de la diarrhée [55]. Ces substances agissent comme des super-antigènes, déclenchant l'activation et la prolifération des lymphocytes T en favorisant une interaction non spécifique entre le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II et les récepteurs des lymphocytes T. Parmi les mécanismes d'action des entérotoxines, on peut citer

l'activation de la libération de cytokines, entraînant la mort cellulaire par apoptose [56].

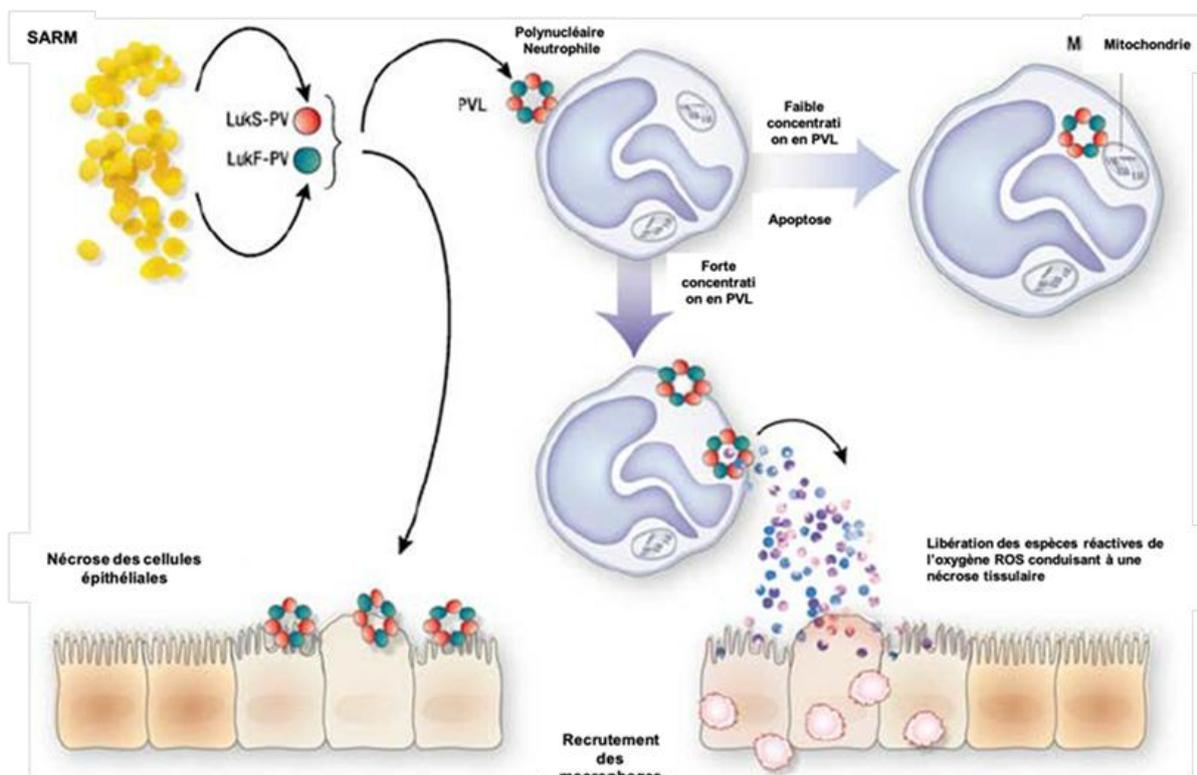


Figure 1.2 : Modèle du mécanisme d'action de la PVL dans la nécrose tissulaire [54].

Plus de neuf types antigéniques majeurs de la SE ont été identifiés ; ils sont désignés comme suit : SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEL, SEQ. Ces toxines ont une activité super antigénique, elles stimulent la prolifération non spécifique des cellules T après avoir interagi avec les cellules présentatrices d'antigène [57]. Il a été démontré que la SEB est considérée comme une arme biologique et que la SEC favorise l'endocardite infectieuse, la septicémie et les lésions rénales [58].

g. Toxic Shock Syndrome Toxin-1

TSST-1 est capable de traverser les surfaces muqueuses et d'entrer ensuite dans la circulation sanguine. Cette toxine est un super-antigène capable

de provoquer le syndrome de choc toxique qui est une maladie grave et potentiellement mortelle et ce en activant un pourcentage important de lymphocytes T. Quelle que soit leur spécificité antigénique, en stimulant la libération d'IL-1, de l'IL-2, du TNF- α et d'autres cytokines pour provoquer une forte fièvre, une éruption cutanée et un choc qui peuvent finalement conduire à la mort de l'hôte [20], [59], [60].

h. Toxines exfoliatines

Les toxines exfoliatives sont des molécules agissant comme des « ciseaux moléculaires » qui facilitent l'invasion bactérienne de la peau. Ce sont des sérines protéases sécrétées par *S. aureus* et nous comptons trois (ETA, ETB et ETD) sur les quatre sérotypes qui existent, en liaison avec l'infection humaine. Des recherches ont signalé que 2/4 patients portant une souche ETD+ présente sur un ulcère de grade 1 ont connu une évolution qui s'aggravaient [61], [62].

1.1.4.2. Biofilms

S. aureus produit une substance polymérique extracellulaire (EPS) appelée biofilm, qui favorise la résistance du microorganisme et réduit l'impact des agents antibactériens [63]. Ce biofilm offre une protection aux cellules contre des conditions hostiles, incluant les variations de température, les limitations ou l'absence de nutriments, ainsi que la déshydratation. Il assure également la défense des cellules contre les agents antibactériens [64].

La diminution de l'efficacité des médicaments contre *S. aureus* résulte de divers obstacles, tels que la capacité réduite des médicaments à pénétrer les cellules bactériennes ou leur blocage complet par les biofilms entourant ces cellules. En outre, d'autres facteurs tels que l'évasion du système immunitaire inné de l'hôte, la flexibilité du génome, et l'adaptabilité par le biais de l'évolution des gènes et l'échange de matériel génétique contribuent également à l'inefficacité des médicaments antibactériens [65].

Les infections provoquées par le *staphylocoque* doré posent un défi majeur en raison de la formation de biofilms. Ces derniers, résistent à la fois au

système immunitaire de l'hôte et aux ATB, conduisant au développement de maladies infectieuses chroniques. Ces biofilms résistent à la fois au système immunitaire de l'hôte et aux ATB, entraînant le développement de maladies infectieuses chroniques. Les biofilms se forment sur diverses surfaces et dispositifs médicaux, tels que les instruments chirurgicaux et les implants, pouvant entraîner des infections chez les patients. Parfois, le retrait et le remplacement de ces dispositifs sont nécessaires. De plus, *S. aureus* peut former des biofilms à l'intérieur des tissus infectés de l'hôte, compliquant davantage le traitement en raison de la résistance aux antimicrobiens. Cette résistance est en partie attribuée à des cellules dormantes, appelées cellules persistantes, enfermées dans le biofilm, restant inactives pendant le traitement antimicrobien et réactivant l'infection dès l'interruption du traitement.

1.1.4.3. Protéines de surface

Diverses protéines membranaires présentes chez *Staphylococcus* jouent un rôle crucial dans la reconnaissance des molécules de matrice adhésive, et elles sont désignées par le terme MSCRAMM, qui signifie Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule. Initialement appliqué aux protéines se liant aux protéines hôtes, telles que les molécules plasmatiques (fibrinogène et fibronectine) ou tissulaires (collagène), ce terme englobe des protéines qui occupent une place centrale dans la colonisation des tissus et du matériel prothétique [67]. Le Tableau 1.3 résume les principales protéines de surface exprimées par cette bactérie, mettant en lumière leurs rôles et mécanismes d'action.

1.1.4.4. Enzymes

a. Coagulase libre

Elle conduit à la formation d'un caillot de fibrine par conversion du fibrinogène. Ce caillot empêche la phagocytose [74].

b. Fibrinolysine ou staphylokinase

C'est une protéine fibrinolytique qui dissout les caillots. Elle active le plasminogène en plasmine et joue un rôle dans l'assainissement de la bactérie [75].

c. Protéases

Elles contribuent à la destruction du caillot et à la formation des micro-embolus bactériennes responsables de métastases septiques en hydrolysant certaines protéines hyaluronidase [76].

Tableau 1. 3 : Protéines de surface exprimées par *S. aureus* [68], [69], [70], [71], [72], [73].

Rôle dans la colonisation ou l'infection	Protéine CWA	Mécanisme
Colonisation nasale ou cutanée	ClfB	Adhésion à la loricrine sur les squames.
	IsdA	Adhésion aux squames.
	SasX	Adhésion aux squames.
Endocardite	ClfA	Adhérence au thrombus.
	FnBPA	Adhésion au thrombus ; invasion de l'endothélium adjacent.
	ClfB	Adhérence au thrombus.
	SraP	Adhérence aux plaquettes ; colonisation du thrombus.
Mammite	FnBP	Invasion de cellules épithéliales dans la glande mammaire.
Pneumonie	Protéine A	Inflammation accrue de l'épithélium pulmonaire.
Infection du corps étranger	FnBP	Infection promue par le biofilm de la SARMa.
		Adhésion au patch intra-aortique
Kératite oculaire	Cna	Renforcement de la colonisation et de l'infection
Mort septique	ClfA	Réduction de l'opsonophagocytose
Survie dans le sang	Protéine A	Se lie au fragment Fc des Ig et inhibe l'opsonophagocytose et agit comme un super antigène.
Abcès rénal	AdsA, ClfA, ClfB Spa, IsdC. IsdA, IsdB, SdrD SdrE	Augmentation de la survie dans la circulation sanguine avant l'infection rénale.
Arthrose septique	ClfA, protéine A	Amélioration de la survie dans la circulation sanguine avant l'invasion de l'articulation.
	Cna	Amélioration de la survie dans la circulation sanguine ; adhérence au cartilage dans l'articulation
Infection articulaire	MSCRAMM de liaison à l'imbrigène	Formation de biofilm dans le liquide synovial.
Abcès sous-cutané	Protéine staphylococcique A (spa)	Développement des abcès, charge bactérienne.

d. Fibrinolysine ou staphylokinase

C'est une protéine fibrinolytique qui dissout les caillots. Elle active le plasminogène en plasmine et joue un rôle dans l'essaimage de la bactérie [75].

e. Protéases

Elles contribuent à la destruction du caillot et à la formation de micro emboles bactériennes responsables de métastases septiques en hydrolysant certaines protéines hyaluronidase [76].

f. Désoxyribonucléase thermostable

Produite par la plupart des souches de *S. aureus*, la nucléase est une enzyme possédant des propriétés tant endo que exonucléasiques. Elle est active sur l'Acide DésoxyriboNucléique et les Acide RiboNucléique, agissant sur différentes modalités de clivage de la molécule [77], [78].

g. Lipases, nucleases, phospholipase C, elastase

Ces enzymes extracellulaires provoquent la destruction tissulaire et permettent l'envahissement des tissus [79].

1.1.4.5. Facteurs protégeant la bactérie de la phagocytose

a. Capsule polysaccharidique

Onze types capsulaires ont été décrits chez *S. aureus*, avec les types 5 et 8 étant les plus fréquemment observés dans les pathologies humaines. Ces capsules jouent un rôle crucial en entravant l'opsonisation et la phagocytose. Elles bloquent la liaison des neutrophiles aux opsonines, telles que l'IgG et le C3b, qui sont présentes sur la surface des cellules cibles. Ainsi, la capsule agit comme une barrière qui entrave l'interaction entre les neutrophiles et les opsonines, contribuant ainsi à l'échappement du système immunitaire par *S. aureus*. Certaines souches produisent un exo polysaccharide (glycocalyx) qui entraîne la formation d'un biofilm, engluant les bactéries et constituant ainsi une

forme de résistance au site de colonisation. Il existe 14 sérotypes mis en évidence par réaction d'agglutination au moyen d'immunsérums [67].

b. Paroi

La paroi bactérienne est composée de plusieurs éléments, dont les acides téichoïques, le peptidoglycane et les lipoteichoïques. Les acides téichoïques sont des polymères linéaires de ribitol phosphate, liés de manière covalente au peptidoglycane. Ces composants démontrent des effets biologiques *in vitro*, comprenant une activité similaire à celle des endotoxines, stimulant la sécrétion de cytokines par les cellules lympho-monocytaires, activant le complément et provoquant l'agrégation plaquettaire [80].

1.1.5. Génétique et régulation de la virulence

a. Génétique

La pathogénicité bactérienne est due, en partie, à leur adaptation rapide en présence des pressions sélectives exercées par l'hôte humain. En outre, à travers leurs génomes, les bactéries sont soumises à des mutations, à divers réarrangements ou à un transfert horizontal de gènes entre et/ou au sein des espèces bactériennes. Les fonctions métaboliques essentielles des bactéries sont généralement codées par les gènes de base ou sinon par des éléments génétiques mobiles (MGE) acquis par transfert génique horizontal. Quelques exemples sont cités dans le Tableau 1.4. Ces MGE, à savoir les bactériophages, les transposons, les plasmides et les îlots de pathogénicité, représentent environ 15 % du génome de *S. aureus*. Le succès de la pathogénicité de cette dernière a été facilité par sa capacité à évoluer rapidement grâce au transfert horizontal de gènes [81]. Les MGE médient l'acquisition de nouveaux facteurs de virulence et sont associés à certaines des molécules de virulence de *S. aureus* les plus puissantes, y compris la PVL et la TSST-1, ils ont également un rôle dans l'accélération de l'adaptation de *S. aureus* aux pressions environnementales par le transfert de gènes de résistance aux antimicrobiens ; l'exemple le plus cliniquement significatif est l'élément Staphylococcal Cassette Chromosome

mec (SCCmec), qui porte le gène *mecA/C* codant la résistance à la méticilline [82].

Tableau 1.4 : Exemples d'éléments génétiques mobiles rencontrés dans le génome accessoire de *S. aureus* [83].

Types d'éléments	Facteurs de Virulence	Exemples	Pathogénicité / mode d'action
Phage	Protéine inhibitrice du chimiotactisme de <i>S. aureus</i> (Chips)	φ13, φtp310-3, φN315, φ252B, φNM3, φMu3A, φSa3USA300.	Bloque l'activation et la migration des PMNs, C5a et récepteurs formyle-peptides
	Enterotoxine A (<i>sea</i>)	φSa3 ms, φSa3, φSa3mw, φ252B, φNM3, φMu50A,	Super antigène, impliqué dans des intoxications alimentaires.
	Leucocidine de Panton et Valentine	φSa2mw, φPVL108, φSa2...etc.	Destruction des leucocytes.
Ilot de pathogénicité	Protéine d'adhésion (<i>bap</i>)	SaPIbov2	Adhésion aux muqueuses mammaires bovines
	Entrotoxine C (<i>sec</i>)	SaPIbov1	Super antigène, intoxications
Cassette Chromosomique Staphylococcique	Protéine de la capsule	SCCcap1	Inhibe la phagocytose
	Phénol-soluble moduline (<i>psm-mec</i>)	SCCmec	Activité Pro-inflammatoire et cytolytique
Plasmide	Toxine Exfoliatine B (<i>etb</i>)	pETB, pRW001	Syndrome de la peau ébouillantée
	Enterotoxine J (<i>sej</i>)	pIB485	Super antigène, intoxications
Ilot génomique	Toxine Exfoliatine D (<i>etd</i>)	vSAγ	Syndrome peau ébouillantée
	Hemolysine α (<i>hla</i>)	vSAγ	Toxine formant des pores

b. Régulation

L'une des principales fonctions du réseau réglementaire complexe pour contrôler la virulence est la détection de divers indices environnementaux et de réagir en modifiant la production de facteurs de virulence nécessaires à la survie dans l'hôte, y compris les adhésines de la surface cellulaire et les enzymes et toxines extracellulaires. Les principaux systèmes de régulation sont expliqués dans le Tableau 1.5. Parmi ces derniers l'un des mieux étudiés est le régulateur de gène accessoire ou accessory gene regulator (*agr*) qui est un système de détection de quorum qui détecte la concentration locale d'une molécule de signalisation peptidique [84]. Il agit comme un régulateur de virulence majeur ; de manière générale, il peut être considéré comme un activateur des exotoxines et

un inhibiteur des facteurs de colonisation et de formation de biofilms. En même temps, il réprime l'expression de protéines de surface qui sont synthétisées durant la phase de croissance et induit l'expression d'exo-protéines qui sont quant à eux synthétisées pendant la phase stationnaire. Ces deux derniers sont nécessaires pour l'infection staphylococcique où ils permettent la colonisation du tissu et la dissémination de l'infection [85].

L'agr utilise une série de régulateurs cytoplasmiques importants. La famille des régulateurs transcriptionnels des protéines SarA (SarA, Rot, MgrA, etc.) et les facteurs sigma alternatifs (SigB et SigH) représentent les plus importants des régulateurs utilisés par agr [86]. Les plus importants de ces régulateurs sont décrits dans le tableau 1.5.

1.2. Typage de *S. aureus*

Le typage permet de distinguer entre des espèces qui n'ont aucun lien de clonalité, et il offre également des informations épidémiologiques. Par exemple, les souches ayant une relation épidémiologique doivent être classées dans des types liés [87], [88].

1.2.1. Stratégies de typage de *S. aureus*

a. Méthodes phénotypiques

Il s'agit de techniques anciennes, strictement normalisées en raison de leurs susceptibilités expérimentales. C'est le regroupement des microorganismes en fonction de leurs caractéristiques phénotypiques, telles que leur aspect morphologique. Ces caractères résultent de l'expression du génome de ces microorganismes [88].

Tableau 1.5 : Principaux systèmes de régulation de la virulence de *S. aureus* [84].

Système de régulation	Rôle	In vivo
agr	Communication cellule-cellulaire (détection de quorum) avec les AIP comme signal ; l'activation agr conduit à l'expression des exotoxines et des exo-enzymes.	Requis pour la virulence dans les modèles animaux d'infection cutanée, de pneumonie et d'endocardite.
SaeRS	Induction de la production d'exoprotéines, y compris de nombreux facteurs de virulence.	Requis pour la virulence dans les modèles animaux d'infection cutanée et de pneumonie
SrrAB	TCS réactif à l'oxygène ; induction de plc et d'ica expressine ; répression d'agr, de TSST-1 et de spa.	Nécessaire pour la défense contre les neutrophiles.
ArIRS	Autolyse et surface cellulaire TCS ; induction de l'expression de MgrA et répression de l' agr et de l'autolyse.	Nécessaire pour la virulence dans les modèles animaux d'infection cutanée et d'endocardite.
SarA	Régulateur cytoplasmique ; induction des exoprotéines et répression du spa.	Requis pour la virulence dans les modèles animaux d'infection par biofilm.
Rot	Régulateur cytoplasmique des toxines et des protéases extracellulaires ; l'activation agr empêche la translation de la pourriture.	La mutation de la pourriture restaure la virulence dans le fond agr-null dans le modèle d'endocardite du lapin.
MgrA	Régulateur cytoplasmique ; induction des pompes d'efflux et expression des capsules ; répression des protéines de surface	Nécessaire pour la virulence dans les modèles animaux d'infection cutanée et d'endocardite
SigB	Facteur sigma de phase stationnaire ; inhibe l'activité agr	Important pour l'établissement d'une infection chronique dans le modèle pulmonaire des rats.

b. Méthodes moléculaires

- Profil de macro restriction génomique par électrophorèse en champs pulsé (PFGE)

La méthode parmi les plus discriminantes pour le typage des *S. aureus*, également normalisée pour le typage des souches SARM, repose sur la digestion de l'ADN bactérien total à l'aide d'enzymes de restriction *Sma*I. Les fragments d'ADN générés sont ensuite séparés sur un gel d'agarose classique soumis à un champ électrique d'orientation variable (champ pulsé). Le schéma de bandes résultant est analysé par un logiciel. L'appartenance au même pulsotype est définie par une similarité du profil de migration supérieure à 80 % en général, complétée par les critères de Tenover [89], [90], [91].

- Techniques basées sur la Polymerase Chain Reaction

La Polymerase Chain Reaction est une technique d'amplification puissante qui peut générer une quantité significative d'un segment spécifique d'ADN, appelé amplicon, à partir d'une petite quantité de matière première, telle qu'un gabarit d'ADN ou une séquence cible [92].

La PCR a été adoptée comme une référence pour la détection d'une variété étendue de modèles dans divers domaines scientifiques. Cette méthode utilise une paire d'oligonucléotides ou d'amorces synthétiques, chacun se liant à un brin d'une cible d'ADN double brin. Cette paire couvre une région qui sera amplifiée de manière exponentielle [93].

✓ **Real Time PCR (RT-PCR)**

Également appelé « qPCR »; cette technologie est basée sur la détection et la quantification simultanée des acides nucléiques dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction de PCR. La quantification peut être obtenue par quantification absolue ou relative.

La quantification relative est obtenue soit par la méthode du Ct (Cycle de seuil) comparatif soit par la méthode de la courbe standard. Ces deux méthodes

mesurent l'expression du gène cible et du gène de référence uniquement en termes relatifs, en utilisant un calibreur et en utilisant une courbe standard [94]. Les étapes de la RT-PCR sont schématisées sur la Figure 1.3.

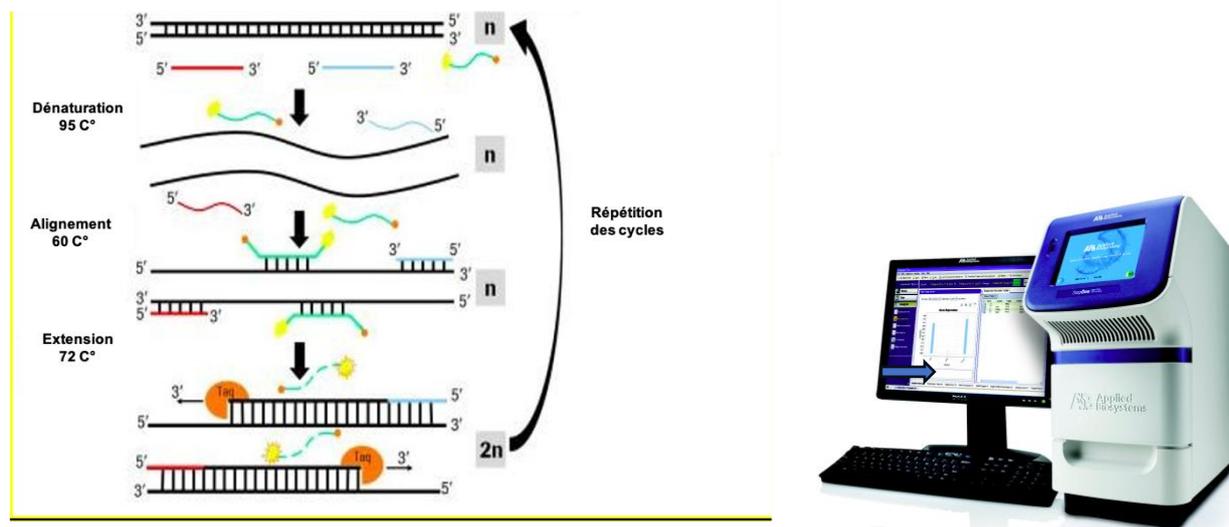


Figure 1.3 : Exemple d'amplification et de détection d'un acide nucléique cible par RT-PCR [95].

✓ Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) standard (PCR conventionnelle)

La PCR fait appel à plusieurs réactifs, parmi lesquels figurent des amorces spécifiques susceptibles de s'hybrider à l'ADN d'intérêt, des nucléotides (dNTPs), une ADN polymérase thermostable (ex : la Taq polymérase), et la matrice ADN (ADN génomique ou ADNc). Les amorces, grâce à des liaisons hydrogène, s'hybrident à la matrice, et la polymérase synthétise, à l'aide des dNTPs, de nouveaux amplicons d'ADN. Ces amplicons sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose et révélés à l'aide d'un intercalant d'ADN tel que le bromure d'éthidium, qui devient fluorescent sous une excitation UV [96]. Nous retrouvons ci-dessous sur la Figure 1.4 ci-dessous schématise le principe de ce type de PCR.

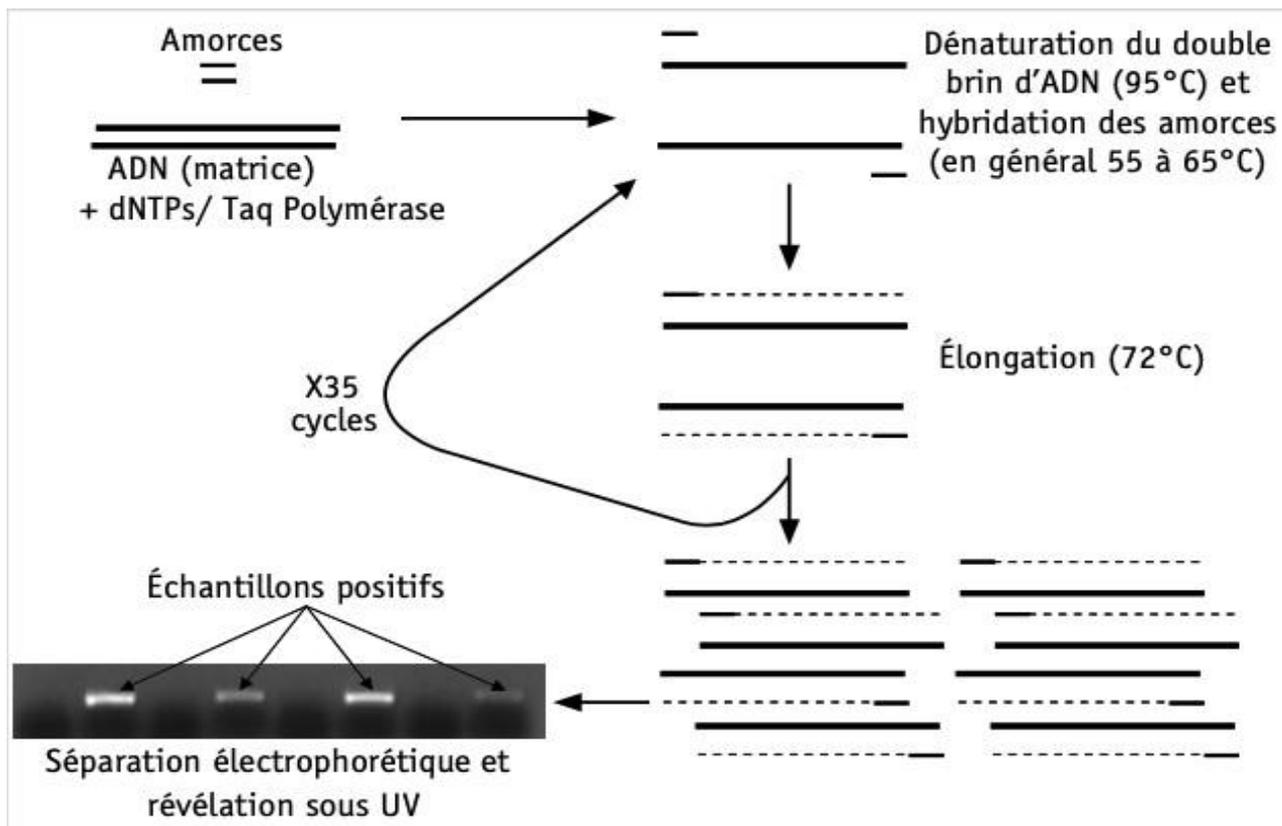


Figure 1.4 : La schématisation du principe de la PCR standard [96].

- Techniques basées sur le séquençage

- a. Multilocus sequence typing

Cette méthode repose sur l'analyse des séquences de sept gènes de ménage conservés de *S. aureus*, à savoir les gènes *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* et *yqiL*. Chacun de ces gènes se voit attribuer un numéro d'allèle pour chaque type de séquence. Environ 30 allèles sont décrits et les allèles des sept gènes définissent la lignée de la souche, aboutissant à un profil allélique désigné comme "sequence type". Deux isolats présentant au moins 5 allèles identiques sont considérés comme génétiquement liés et peuvent être regroupés au sein d'une unité appelée complexe clonal. Dans la nomenclature des SARM, le ST est généralement associé au type SCCmec pour nommer une souche [90], [97].

b. Typage spa

Cette technique est basée sur le séquençage d'un locus unique, de la région polymorphique « X » du gène spa, codant la région N-terminale de la protéine A de *S. aureus*. Cette région est composée principalement de 3 à 15 répétitions d'une séquence de 24 pb dont la diversité est liée à des mutations ponctuelles, des délétions ou des duplications de répétitions. Le partage d'information entre institutions pour cette méthode est relativement simple étant donné la mise en place d'un site de référence sur internet. Les souches typées portent le nom de type (t) suivi d'un numéro correspondant [90], [98].

c. Séquençage du génome entier (WGS)

Le séquençage haut débit ou séquençage de Next Génération est basé sur la génération et la lecture en parallèle de millions de petites séquences d'ADN indépendantes. Il repose sur une méthode de séquençage par synthèse. Une étape de fragmentation est précédée pour commencer, à l'aide des adaptateurs, ces fragments sont attachés à des cellules débits « flow cells » pour former une bibliothèque adaptée au séquençage. Cette librairie, contient des oligonucléotides, capables d'attacher les fragments d'ADN ayant un adaptateur complémentaire, ainsi un cluster est formé à partir d'un ensemble de fragments provenant d'un même fragment original. À la fin de l'amplification et la production des clusters, des amorces, des ADN polymérase et des nucléotides modifiés sont additionnés aux flow cells. Les amorces s'attachent sur les fragments d'ADN par complémentarité, en incorporant d'autres nucléotides grâce à l'ADN polymérase. Ces nucléotides sont modifiés de façon que chaque type de nucléotide soit identifié par un marqueur fluorescent unique. Ainsi, un terminateur réversible est également ajouté à chaque nucléotide, afin d'assurer l'incorporation qu'un seul nucléotide à la fois par l'ADN polymérase. Lors de chaque incorporation, la base intégrée est déterminée par la longueur d'onde de son marqueur fluorescent, détectée grâce à un capteur CCD. Par conséquent, les régions ciblées du génome peuvent être capturées sélectivement à partir de la solution en appliquant un champ magnétique, tandis que la majeure partie du reste du génome et les nucléotides non incorporés sont emportés dans le surnageant.

Pour le NGS, la génération des séquences d'ADN et leur lecture se font en parallèle. Ces données brutes sont ensuite réorganisées par un traitement informatique pour reconstituer le brin d'ADN cible, avant d'être analysées pour y déceler d'éventuelles variations par rapport à la séquence de référence [99], [100], [101]. La figure 1.5 résume les étapes du séquençage MiSeq (Illumina Inc).

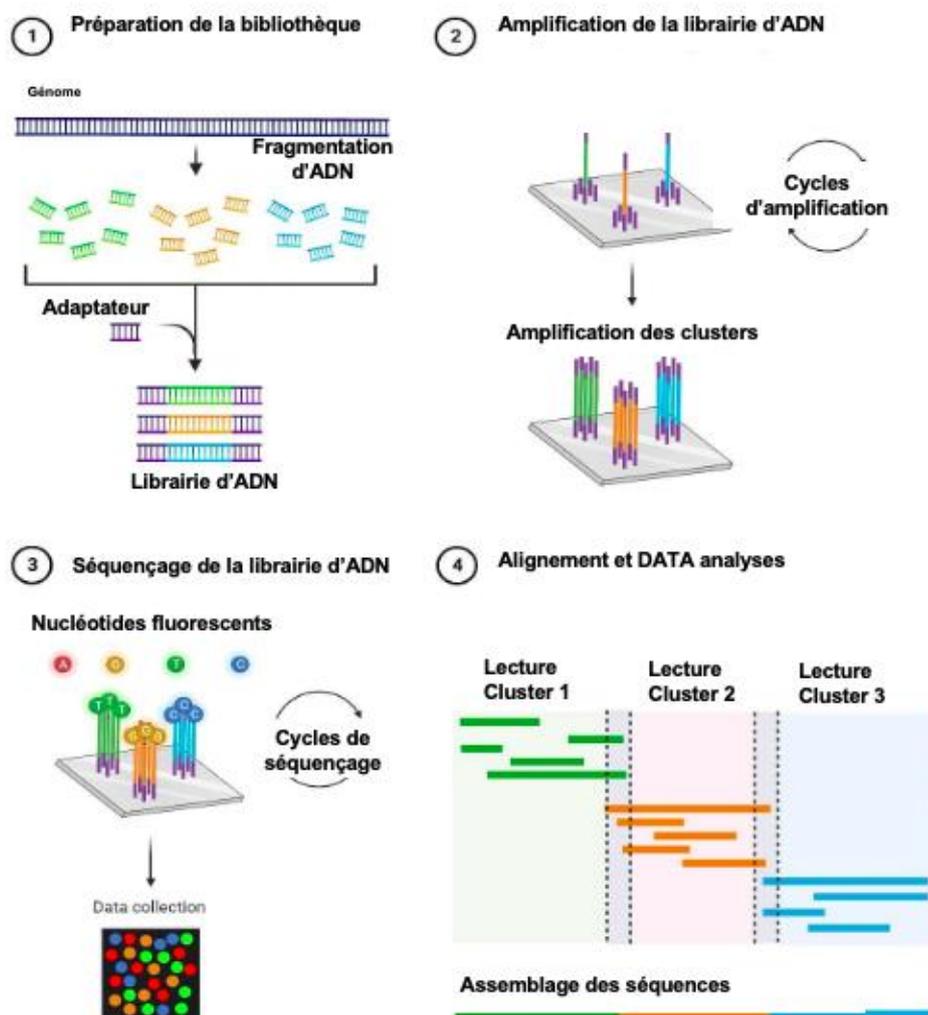


Figure 1.5 : Principe du séquençage Illumina [102].

- Multiple-Locus Variable number tandem repeat Analysis

La MLVA exploite la variation de nombre de motifs répétés en ayant un nombre de copies variables, comme les répétitions en tandem variables en nombre (Variable Number Tandem Repeats, VNTR) [103]. L'amplification d'un

nombre prédéfini de loci suivie de la mesure de la taille de chaque fragment permet d'assigner à chaque souche une série de nombres correspondant aux nombres de répétitions pour chaque locus. Le nombre de répétitions de chaque locus est spécifique de chaque souche. Suite à cette amplification, le poids moléculaire des fragments est évalué après une migration sur gel d'agarose et les données sont analysées avec un logiciel spécial [33], [104].

1.3. Antibiorésistance

1.3.1. Définition du terme antibiotique (ATB)

Un ATB regroupe une variété de molécules organiques qui, par des interactions spécifiques avec des cibles bactériennes, entraînent l'inhibition ou la destruction des micro-organismes. Certains traitements purement synthétiques sont également considérés comme des ATB, agissant en interagissant avec des récepteurs et déclenchant des réponses cellulaires spécifiques ainsi que des mécanismes biochimiques de résistance croisée chez les agents pathogènes [7].

1.3.2. Acquisition des mécanismes de résistance

Le transfert génétique horizontal est identifié comme un événement clé dans l'acquisition de mécanismes de résistance entre différentes espèces. Les hôpitaux, les communautés humaines, les exploitations agricoles, les élevages aquacoles et l'agriculture sont considérés comme des réservoirs où l'utilisation d'ATB sélectionne les bactéries résistantes, favorisant ainsi l'échange de gènes. Récemment, une attention particulière a été accordée à l'environnement et aux habitats écologiques, suggérant qu'ils jouent un rôle essentiel dans le transfert et le transport des gènes conférant la résistance aux ATB [105]. La surutilisation des ATB à large spectre et les traitements préventifs sont également reconnus comme des contributeurs significatifs à l'émergence des résistances bactériennes [106].

1.3.3. Évolution de l'antibiorésistance chez *S. aureus*

Au fil des années, la résistance aux ATB chez *S.aureus* a connu divers développements, lesquels sont récapitulés dans le Tableau 1.6.

Tableau 1.6 : Premiers évènements historique de l'antibiorésistance du *staphylocoque doré* [107].

Période	Évènement
1942	Découverte de la pénicilline Premières souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la pénicilline (β-lactamase).
1950	Augmentation de la proportion des souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la pénicilline.
1956	Découverte de la vancomycine.
1960	Introduction des pénicillines anti staphylococciques (famille de la méticilline) Emergence de souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la méticilline (SARM) (gène <i>mecA</i>). La vancomycine est réservée uniquement en cas d'allergie aux bêta-lactamines.
1970	Augmentation de la proportion des souches de SARM.
1980	Augmentation de l'utilisation de vancomycine SARM endémique dans la plupart des hôpitaux, en particulier aux USA. Utilisation élargie de la vancomycine, y compris en prophylaxie chirurgicale dans les hôpitaux à forte endémicité pour SARM Introduction et utilisation rapide large de la teicoplanine.
1997-1999	Modification de la paroi (gène <i>vanA</i>) /Rapports de cas d'infections sévères à SARM acquises dans la communauté.

1.3.4. Résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

a. Résistance aux bêta-lactamines

La Figure 1.6 schématise les mécanismes de résistance les plus importants chez *S. aureus*. Parmi ces mécanismes nous retrouvons la résistance aux bêtalactamines qui est un phénomène de plus en plus préoccupant. Les bêtalactamines, qui incluent des antibiotiques comme la pénicilline et la méticilline [108].

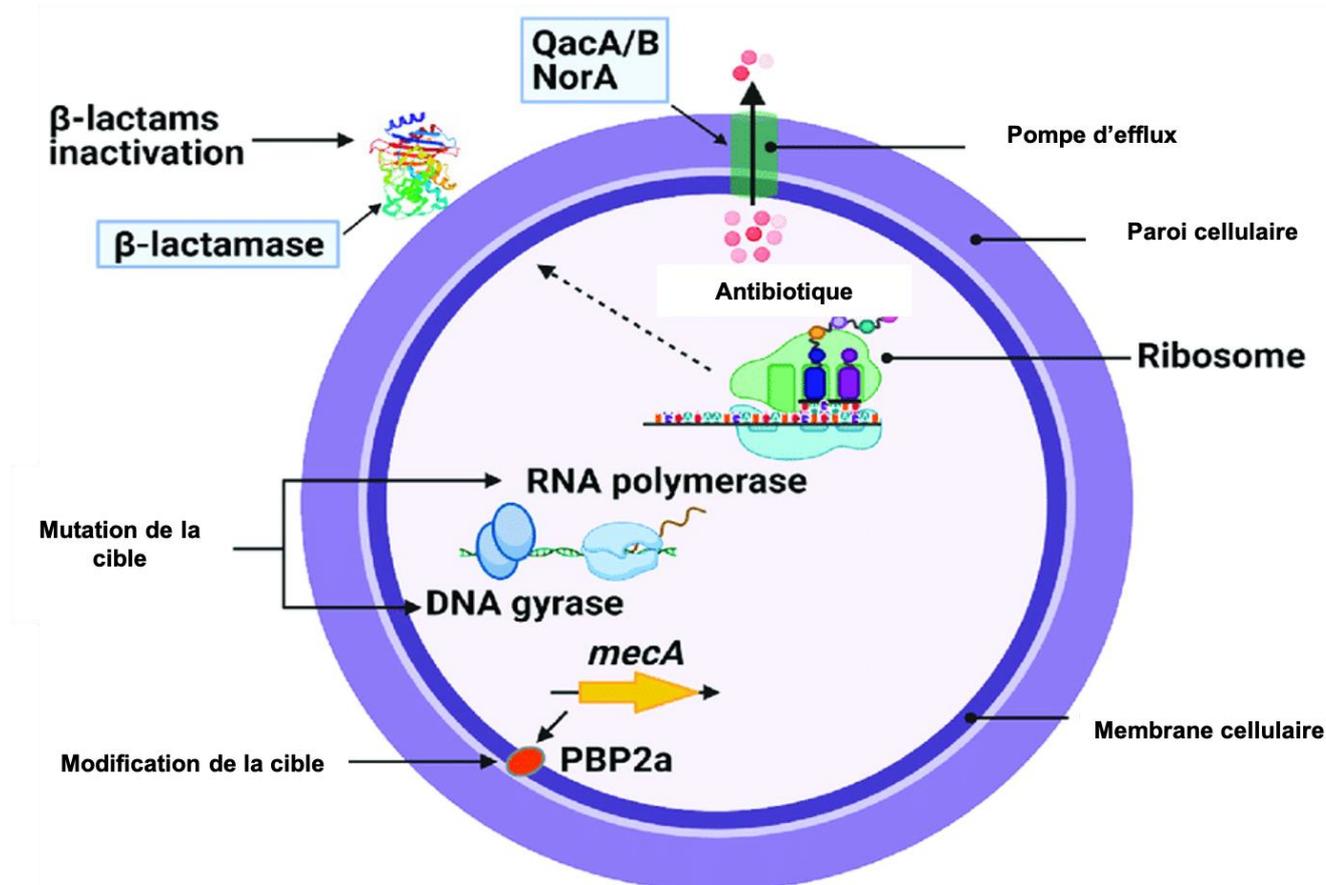


Figure 1.6 : Mécanismes de résistance les plus importants chez *S. aureus* [108]: les ATB en anneau jaune, mécanismes d'action - flèches vertes. Résistance aux bêta-lactames : 1. Production de la protéine de liaison à la pénicilline PBP2A, 2. * mutations dans les gènes *PBP* - rare (MODSA), 3. production de bêta-lactamases - généralement un spectre de substrat étroit. Résistance aux glycopeptides : 4. Opérons *VanA* (modification du site de liaison ATB), résistance aux linézolidés : 5. adénylyl-N-méthyltransférase Cfr-modification 23S rRNA du ribosome bactérien. Résistance au MLSB 5. *Erm* - méthylation du ribosome d'érythromycine. Résistance aux aminoglycosides : 6. inactivation des atb par les transférases. Résistance aux fluoroinolones : 7. mutations dans les gènes *gyrA* et *gyrB* (topoisomérase II) et *parC* (*grIA*) et *parE* (topoisomérase IV) (modification du site de liaison aux ATB), 8. élimination de la cellule bactérienne par la pompe d'efflux.

- Pénicilline

Un pourcentage dépassant les 90% des souches de *S. aureus* montre une résistance à la pénicilline G. Le mécanisme de résistance à la pénicilline est médié par le gène plasmidique *blaZ*, porté par un plasmide ou un transposon, qui est responsable de la synthèse d'une enzyme appelée β -lactamase ou pénicillinase. Cette enzyme hydrolyse le cycle β -lactame des pénicillines, les rendant ainsi inactives. Le gène *blaZ* est régulé par un système répresseur anti-répresseur (*blaR1blaI*) [79], [109]. En raison de l'émergence de ce type de résistance, l'utilisation de la pénicilline est essentiellement inefficace dans le traitement des infections à *S. aureus* [110].

- Méricilline

Peu de temps après l'introduction clinique de la méricilline, la résistance à cet agent antimicrobien par le *S. aureus* a été constaté entraînant une épidémie mondiale de SARM dans les milieux de soins de santé et communautaires. Ce phénomène constitue désormais un problème de santé majeur à l'échelle mondiale [111].

- Résistance par modification de la cible

La résistance à la méricilline est principalement due à ce mécanisme. Les β -lactamines ont pour cible les transpeptidases appelées aussi protéines liant la pénicilline (PLP). En plus des 4 PLP présents naturellement chez tous les *S. aureus*, les SARM sont responsables de la synthèse d'une 5^{ème} PLP modifiée, additionnelle appelée PLP2a ou 2' qui a une faible affinité pour les β -lactamines et est autonome et capable de réaliser par elle-même la synthèse de la paroi bactérienne même quand les autres PLP sont altérées [109], [112].

Le gène codant pour la PLP2a conférant une résistance à tous les ATB β -lactames est le gène *mecA* localisé sur une cassette chromosomique staphylococcique mobile qui a été acquise par *S. aureus* SASM [95], [113], [114]. Comme illustré sur la figure 1.7, la cassette SCCmec comprend également le complexe génique des recombinases chromosomiques. Les gènes *ccr*,

composés de *ccrC* ou d'une paire de *ccrA* et *ccrB*, codent pour des recombinases qui facilitent l'intégration et l'excision de SCCmec dans ou à partir du chromosome. En plus des complexes géniques *ccr* et *mec*, SCCmec renferme d'autres gènes ainsi que divers éléments génétiques mobiles tels que des séquences d'insertion, des transposons et des plasmides [115], [116].

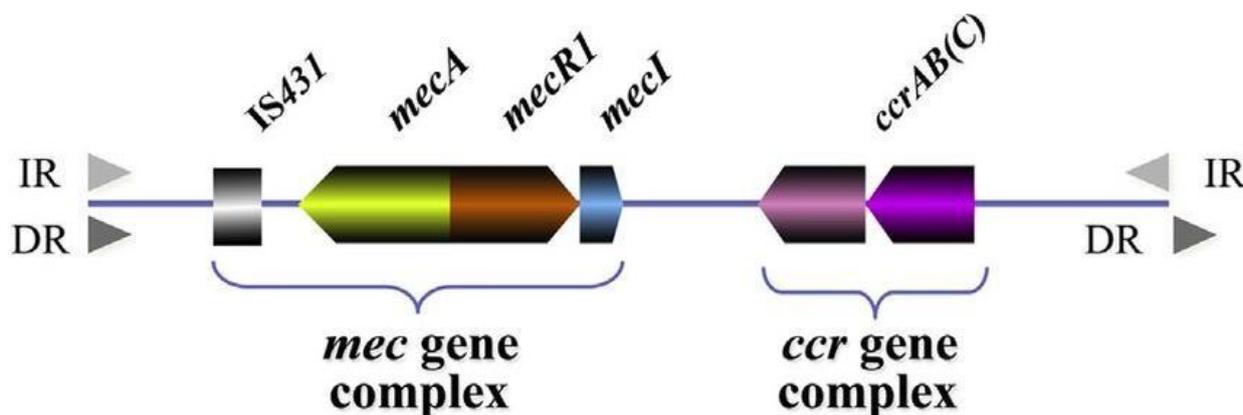


Figure 1.7 : Structure de la cassette SCCmec présente chez *S. aureus* [117].

Au fil des années, différents types de SCCmec ont été découverts, et à ce jour, onze types ont été documentés (SCCmec I-XI), accompagnés de cinq allotypes des complexes génétiques *ccr* (*ccrAB1*, *ccrAB2*, *ccrAB3*, *ccrAB4* et *ccrC*). Les types I, II, III, VI et VIII de SCCmec sont généralement associés à une acquisition en milieu hospitalier (SARM-HA), tandis que les types IV, V et VII sont liés à des acquisitions en communauté (SARM-CA). Pour ce qui est des types IX, X et XI, ils sont qualifiés de SARM associés au bétail (SARM-LA) [115], [118].

L'expression de la résistance à la méticilline chez *S. aureus* est sous le contrôle de deux systèmes régulateurs agissant au niveau de la transcription. Celui du gène *mecI* et du gène *blaI* qui sont contrôlés par les transducteurs *mecR1* et *blaR1*. Le premier gène est situé en amont du gène *mecA* tandis que le deuxième en amont du gène *blaZ*. La protéine *MecR1* produit du gène *mecR1*, agit comme transducteur de signal et détecte la présence de β -lactamines grâce à son domaine extracellulaire. Une fois l'ATB lié, il y a activation du domaine intracellulaire. Celui-ci subit une activation par protéolyse limitée lui conférant une activité protéasique. Cette dernière conduit à la dégradation du *MecI* (répresseur

de la transcription codé par *mecI*) qui est fixé au niveau de l'opérateur d'où la libération de ce dernier avec l'expression du *mecA* [111], [119].

- Résistance par d'autres mécanismes

Cependant, des isolats présentant une résistance à la méticilline et/ou à l'oxacilline sans la présence du gène *mec* ont été rapportés. Selon Peacock et Paterson, (2015) [100], cette résistance peut être attribuée soit à une activité accrue de la β -lactamase chez les souches BORSA (Bordeline *Staphylococcus aureus*), présentant une résistance faible ou limite aux pénicillines résistantes à la pénicillinase (PRP) avec des CMI d'oxacilline généralement comprises entre 1-8 $\mu\text{g/ml}$. Contrairement aux SARM, les BORSA ne possèdent pas la protéine de liaison à la pénicilline altérée, PBP2a, codée par les gènes *mecA* ou *mecC*. Leur résistance est généralement associée à une hyperproduction de bêta-lactamases ou, dans certains cas, à des mutations ponctuelles dans les gènes *PBP*. Les BORSA ne peuvent pas être catégorisés comme des souches véritablement résistantes à la méticilline ou véritablement sensibles à la méticilline. Cependant, elles sont souvent mal identifiées, représentant ainsi une menace épidémiologique et thérapeutique évidente. D'autre part, il existe des isolats présentant une résistance due à des mutations, appelées Modified *S. aureus*, qui présentent des modifications des PLP de *S. aureus* par diverses mutations ponctuelles chez des souches ne produisant pas de bêta-lactamase [110], [120], [121].

- a. Résistance aux macrolides, aux lincosamides, aux cétolides et aux streptogramines B

Le mode d'action de la plupart des MLSB (Macrolides-Lincosamide-Streptogamin B) repose sur l'inhibition de la synthèse protéique par fixation sur un site cible qui est un fragment d'ARNr à quatre nucléotides (dans la région de la peptidyltransférase) dans le domaine V de l'ARNr 23S, dans la sous-unité 50S du ribosome [122].

Le mécanisme impliquant une modification du site cible de l'ATB est considéré comme le mécanisme le plus couramment utilisé par *S. aureus* pour acquérir une

résistance croisée aux MLSB. Les enzymes adénylyl-N-méthyltransférase, codées par le gène *erm* (méthylation du ribosome érythromycine), sont responsables de cette modification. La résistance aux MLSB peut être dite constitutive lorsque les souches expriment une résistance à tous les MLSB, ou de manière inductible lorsque la méthylase est produite uniquement en présence d'un macrolide inducteur de la synthèse de la méthylase, qui peut être de l'érythromycine ou un autre macrolide [123].

Des études ont suggéré que la formation de variantes constitutives à partir de gènes inductibles peut se produire. Plusieurs causes de cette formation ont été identifiées, notamment des délétions, des duplications, des insertions, et plus rarement, des mutations ponctuelles situées dans une région d'environ 200 bp en amont de l'extrémité 5' du gène *erm* [124]. La figure 1.8 explique le processus de production de l'Erm méthylase.

Parmi les autres mécanismes de résistance à la MLSB décrits dans la littérature, nous retrouvons une résistance induite par des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les protéines ribosomiques comme une mutation le gène *rpIV* codant pour la protéine L22 dans la sous-unité 50S du ribosome responsable de la résistance à l'érythromycine et à la télithromycine [125]. Cette résistance pourrait également résulter de la synthèse d'enzymes inactivatrices de MLSB telles que les phosphotransférases macrolides Mph(BM) et Mph(C). La synthèse des protéines des pompes d'efflux telles que les protéines ABC Msr(A), Msr(A)/Msr(B), MsrSA et les protéines Vga(A) (résistance à la clindamycine et à la lincomycine) [126], [127], [128], [129].

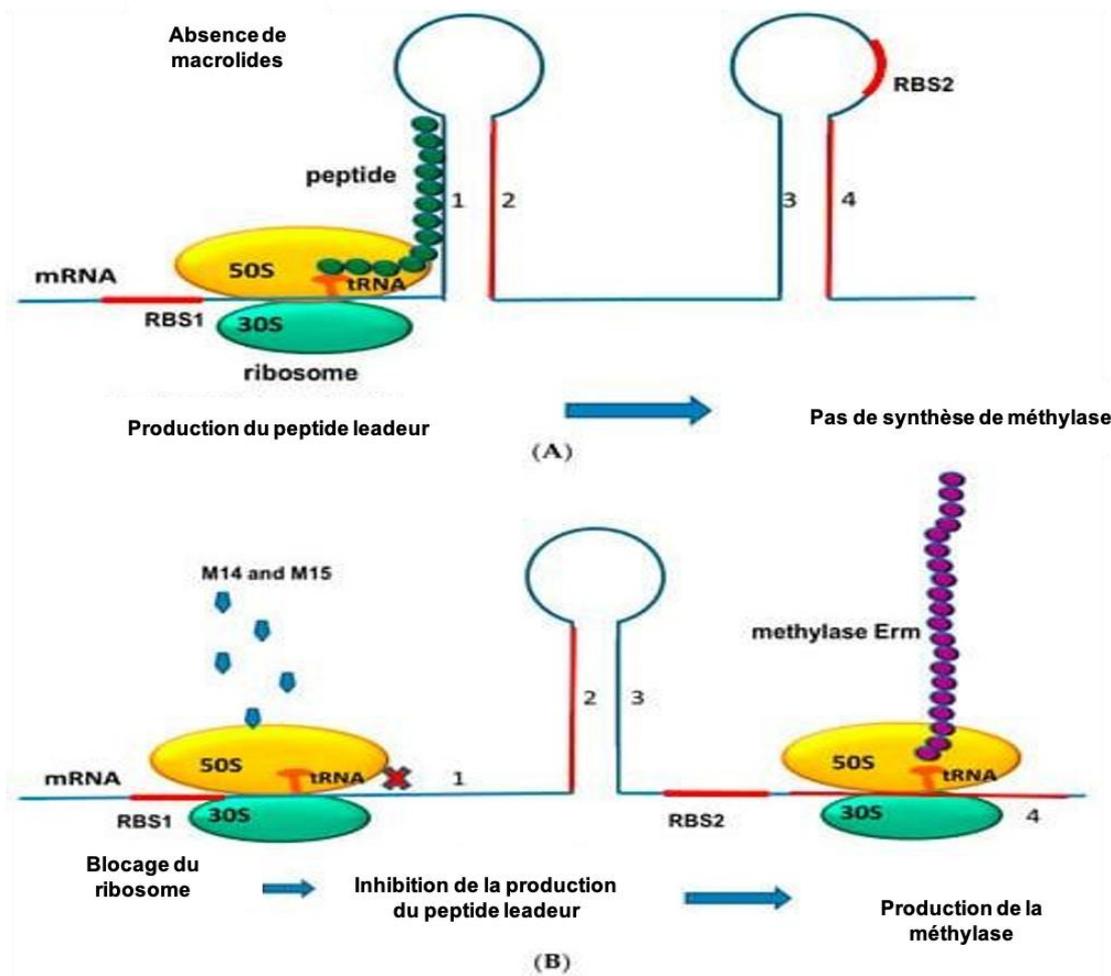


Figure 1.8 : Production d'Erm méthylase par *S. aureus* est régulée au niveau translationnel. RBS - site de liaison au ribosome, M14 et M15 - macrolides avec un anneau de 14 et 15 membres. (A) En l'absence de macrolides M14 et M15, un peptide leader est produit qui se fixe à l'ARNm empêchant la traduction de la méthylase Erm (A,B). Lorsque le ribosome bactérien est bloqué par des macrolides, le peptide principal n'est pas traduit et la conformation de l'ARN change de telle sorte que la production de la méthylase est possible [108].

b. Résistance aux aminosides

Le mécanisme d'action de ces molécules consiste à inhiber la synthèse protéique. Elles agissent sur la traduction des ARNm où elles interfèrent avec la sous unité 30S des ribosomes après pénétration dans la bactérie de façon passive ce qui perturbe la fonction ribosomale et bloque l'initiation de la synthèse des protéines menant ainsi au blocage de la traduction et à la terminaison

prématurée ou encore à l'incorporation anarchique d'aminosides qui entraînent la mort bactérienne [130], [131].

Trois types de mécanismes de résistance sont impliqués dans cette résistance qui est portée par des plasmides [132]:

- ✓ **Aminoglycoside phosphotransférase (3') -III** : Cette enzyme confère la résistance à la kanamycine et à la néomycine (phénotype K). Les souches produisant ces enzymes apparaissent sensibles à l'amikacine dont les CMI sont multipliées seulement par trois. Cette enzyme est présente chez moins de 10% des souches méticillino- sensibles.
- ✓ **Aminoglycoside nucléotidyltransférase (4`-4``)** : Cette enzyme confère la résistance à la kanamycine, à l'amikacine et à la tobramycine (phénotype KT).
Cette résistance est présente chez environ 1/3 des souches résistantes à la méticilline.
- ✓ **Aminoglycoside acétyltransférase (6`) – aminoglycoside phosphotransférase (2`)** : Cette enzymes bifonctionnelle confère la résistance à la kanamycine, la tobramycine et à la gentamicine (phénotype KTG). L'amikacine et la nétilmicine paraissent actives avec des CMI cependant multipliées respectivement par 10 et 15. Cette enzyme est détectée chez 2/3 ou plus des souches méticillino-résistantes.

c. Autres résistances aux antibiotiques

Le Tableau 1.7 résume la résistance de *S. aureus* vis-à-vis des autres familles d'ATB.

Tableau 1.7 : Résistances microbiennes à d'autres familles d'ATB [29], [131], [133], [134].

Famille	Mécanisme d'action	Mécanisme de résistance
Acide fusidique	Inhibition de la synthèse protéique	Mutations portant sur le facteur d'élongation EF-6 survenant à haute fréquence, impliquant une utilisation de l'acide fusidique en association avec un autre ATB et une diminution de la perméabilité et de l'affinité entre ce facteur et l'ATB.
Rifampicine	Inhibition de la transcription	Mutations au niveau du gène codant pour l'ARN polymérase.
Glycopeptides	Inhibition de la synthèse de la paroi	Épaississement de la paroi qui piège les glycopeptides chez les souches GISA ou VISA. Production d'une nouvelle cible de faible affinité (Dala-D-lactate) chez les souches VRSA.
Fluoroquinolones	Inhibition de la réplication et de la transcription	Modification de la cible Système d'efflux
Tétracyclines	Inhibition de la synthèse protéique	Un premier mécanisme lié à une insuffisance de concentration intracellulaire de l'ATB due à une sortie excessive de l'ATB (efflux) à travers la membrane cytoplasmique, sous l'action d'une protéine membranaire TET. Ce mécanisme confère une résistance à la tétracycline mais pas à la monocyline. Une deuxième est lié à une modification de la cible ribosomale de ces ATB. Dans ce cas, il y a une résistance croisée à toutes les tétracyclines.
Chloramphénicol	Inhibe la synthèse protéique	Modification de la cible (topo-isomérases II et IV). Mécanisme d'efflux Acquisition d'un chloramphénicol acétyltransférase plasmidique qui modifie le chloramphénicol engendrant une résistance à haut niveau.
Cotrimoxazole	Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Modification ou hyperproduction des enzymes cibles (DHPS ou de DHFR).
Fosfomycine	Inhibition de la synthèse de la paroi	Mutation servant à haute fréquence et portant sur le transport de l'ATB. Inactivation de l'ATB par conjugaison au glutathion

1.4. Infections, Environnement hospitalier et Épidémiologie de *S. aureus* et du SARM

1.4.1. Infection nosocomiale

a. Définition

Au sens étymologique du terme, le mot « nosocomium » signifie hôpital en latin. Une infection nosocomiale est une infection contractée lors d'un séjour en milieu hospitalier [135].

Les infections nosocomiales sont des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'admission du patient. Les infections survenant plus de 48 heures après l'admission sont habituellement considérées comme nosocomiales. Le délai peut s'étendre jusqu'à 30 jours lors du cas précis d'une infection du site opératoire, allant jusqu'à 90 jours après avoir subi certaines procédures chirurgicales [136].

La population la plus atteinte par les infections nosocomiales est celle composée de patients immunodéprimés comme ceux qui sont sous chimiothérapie, ayant subis une transplantation, admis dans les unités des soins intensifs et des brûlés ou encore les nouveaux nés [2].

b. Types d'infections nosocomiales

Les infections nosocomiales peuvent revêtir plusieurs formes, variant en gravité et en localisation. Selon diverses enquêtes, elles se répartissent comme suit : infections des voies urinaires (28,5%), infections des sites opératoires (15,9%), pneumonies (15,6%), infections cutanées (14 %) et enfin les bactériémies et les septicémies (11,4%). Il est toutefois noté une augmentation progressive de la prévalence des infections du site opératoire au fil du temps [137].

c. Microorganismes nosocomiaux

Un large éventail d'agents infectieux tels que parasites, levures, bactéries, virus, etc., peut être responsable d'infections nosocomiales. Cependant, certains

d'entre eux sont plus fréquemment associés à ces infections. Il est donc important de les identifier, de comprendre leur habitat, leur mode de transmission, leur porte d'entrée dans l'organisme, ainsi que les principales pathologies qu'ils peuvent provoquer. Cette connaissance permet d'organiser de manière plus efficace la prévention et la prise en charge de ces infections. Il est à noter que les agents pathogènes peuvent varier en fonction des populations de patients, des installations médicales et même des différences dans l'environnement où les soins aux patients sont dispensés [138], [139].

Une étude récente en Iran a démontré que les infections sont causées par divers agents pathogènes selon leur localisation. Pour les infections de plaies, les germes les plus fréquents sont *Staphylococcus aureus* (43,8 %), *Pseudomonas aeruginosa* (24,2 %), et *Acinetobacter* (21,8 %). Les infections respiratoires sont dominées par *Acinetobacter* (18,8 %) et *Pseudomonas aeruginosa* (16,2 %), tandis que les infections urinaires sont principalement dues à *Escherichia coli* (32 %) et à *Candida* (19,3 %). En ce qui concerne la bactériémie, les germes les plus courants sont *Staphylococcus epidermidis* (31 %) et *Enterobacter* (16 %). Ces agents pathogènes varient selon le type d'infection, soulignant l'importance d'un traitement spécifique à chaque cas [140].

d. Mode de transmission de l'agent infectieux

Une grande partie des infections nosocomiales sont le résultat d'une réalisation d'un geste invasif chez le patient en créant une porte d'entrée pour l'agent infectieux présent dans l'environnement proche (mains du personnel, peau du patient, matériel ou dispositif médical). Ce sont les conséquences d'un geste chirurgical (incision, ouverture de la peau et d'organes habituellement stériles ou non), à la pose d'un cathéter veineux ou artériel, d'une sonde vésicale etc. [141].

Selon Bouvier, (2013) [142] il existe deux modes de transmission des infections nosocomiales. Le premier type survient quand il y a contamination des

sites qui sont à la base stérile. Cette contamination se fait soit par la flore dont le porteur est le patient, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'un déséquilibre entre le système immunitaire de l'hôte et la virulence du pathogène et c'est ce qu'on appelle « infection d'origine endogène ». Pour ce qui est du deuxième type, c'est quand l'agent causal a pour origine les autres patients (transmission croisée, par dispositif médical ou bien par les mains du staff hospitalier), la contamination de l'environnement hospitalier ou les germes du personnel porteur.

La Figure 1.9 schématise le mécanisme de l'infection, illustrant la transmission du micro-organisme inactif présent dans le réservoir (qu'il soit endogène ou exogène) d'un patient à un autre, transformant ce dernier en un porteur colonisé. Cette transmission est suivie de l'activation de la multiplication de l'agent pathogène, engendrant une infection qui se manifeste par des signes cliniques caractéristiques.

1.4.2. Environnement hospitalier : un réservoir de bactéries

a. Définition

L'environnement hospitalier englobe l'ensemble des éléments, qu'ils soient liquides, solides ou gazeux, qui entourent ou entrent en contact avec les patients, les visiteurs ou le personnel au sein d'une structure hospitalière. Cette définition englobe divers éléments tels que les surfaces inertes (mobilier, linge, instrumentation), les surfaces vivantes (les mains du personnel), les eaux (de réseau, de piscine et de dialyse), les solutés (préparations injectables, solutions d'antiseptiques, pommades) et l'alimentation [144], [145].

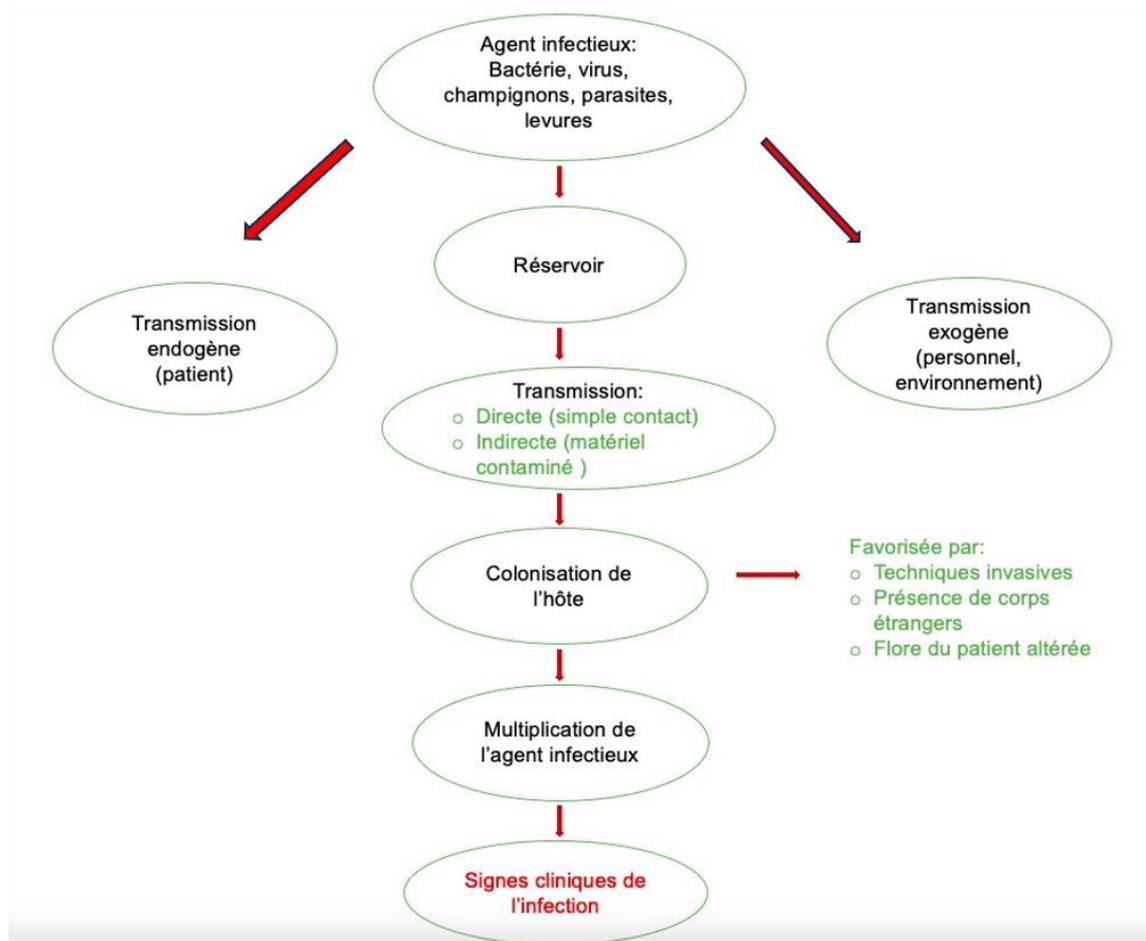


Figure 1.9 : Mécanisme de l'infection de l'agent pathogène [143].

L'environnement hospitalier est fréquemment contaminé par des microorganismes d'origine humaine ou environnementale. La nature et la quantité de cette contamination varient dans le temps, d'un établissement à un autre, et même au sein du même établissement. Ces variations sont influencées par les différents services, les types de patients (sains, colonisés, infectés), ainsi que par les soins et les techniques médicales pratiqués [146].

b. Zones à risque à hôpital

Les installations hospitalières sont classifiées en quatre catégories de zones en fonction de leur niveau de risque infectieux. La première catégorie est considérée comme présentant un faible risque, regroupant les services administratifs, les espaces de réunion et de formation, la cantine du personnel, les résidences étudiantes, les halls, les bureaux, etc. Ensuite, la deuxième

catégorie est classée à risque modéré, englobant la psychiatrie, les salles d'attente, les consultations, la chambre de garde, les offices alimentaires, etc. La troisième catégorie est définie comme à haut risque, incluant des zones telles que la réanimation, les urgences, les salles d'accouchement, la médecine, la chirurgie, la maternité, l'imagerie médicale, l'endoscopie, la nurserie, la biberonnerie, les salles de soins et la salle d'autopsie. Enfin, la quatrième catégorie est classée à très haut risque, comprenant le bloc opératoire, le bloc obstétrical, le bloc d'imagerie, l'unité de greffe d'organes et de moelle osseuse, ainsi que le service des grands brûlés [147].

c. Persistance de bactéries sur les surfaces

S. aureus, *Streptococcus pyogenes* et de nombreuses bactéries à Gram négatif, tel *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* et *Shigella spp.* maintiennent leur viabilité durant des mois sur des surfaces inertes. Ces bactéries sont fréquemment retrouvées chez les patients souffrant d'infections nosocomiales. En revanche, d'autres bactéries, telles que *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Proteus vulgaris* et *Vibrio cholerae*, ne restent viables que pendant quelques jours (Tableau 1.8).

1.4.3. Colonisation par *S. aureus*

a. Portage de *S. aureus*

S. aureus est une bactérie opportuniste, présente de manière commensale sur la peau et les muqueuses de l'homme ainsi que sur celles de nombreuses espèces animales. Cette bactérie peut contaminer la peau de manière temporaire, mais elle peut également s'installer de manière plus persistante dans des régions propices caractérisées par des conditions d'humidité et de pH favorables.

Tableau 1.8 : Types de bactéries avec leur durée de persistance dans l'environnement [148].

Type de bacteria	Durée de persistance (intervalle)
<i>Acinetobacter spp.</i>	3 jours à 5 mois
<i>Bordetella pertussis</i>	3 – 5 jours
<i>Campylobacter jejuni</i>	jusqu'à 6 jours
<i>Clostridium difficile</i> (spores)	5 mois
<i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>C. trachomatis</i>	≤ 30 heures
<i>Chlamydia psittaci</i>	15 jours
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	7 jours – 6 mois
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	1 – 8 jours
<i>Escherichia coli</i>	1,5 heures – 16 mois
<i>Enterococcus spp.</i> , y compris VRE et VSE	5 jours – 4 mois
<i>Haemophilus influenza</i>	12 jours
<i>Helicobacter pylori</i>	≤ 90 minutes
<i>Klebsiella spp.</i>	2 heures à > 30 mois
<i>Listeria spp.</i>	1 jour – plusieurs mois
<i>Mycobacterium bovis</i>	> 2 mois
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1 jour – 4 mois
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 – 3 jours
<i>Proteus vulgaris</i>	1 – 2 jours
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 heures – 16 mois (sur sol sec:5mois)
<i>Salmonella typhi</i>	6 heures – 4 semaines
<i>Salmonella typhimurium</i>	10 jours – 4,2 ans
<i>Salmonella spp.</i>	1 jour
<i>Serratia marcescens</i> , y compris MRSA	3 jours – 2 mois (sur sol sec : 5 mois)
<i>Shigella spp.</i>	7 jours – 7 mois

Comme illustré dans la Figure 1.10, *S. aureus* peut être localisé dans diverses zones telles que la gorge, la région axillaire, le périnée, le rectum, le

vagin, ou même dans des lésions cutanées chroniques. Cependant, il est important de noter que la muqueuse nasale demeure sa niche écologique préférentielle et essentielle [149].

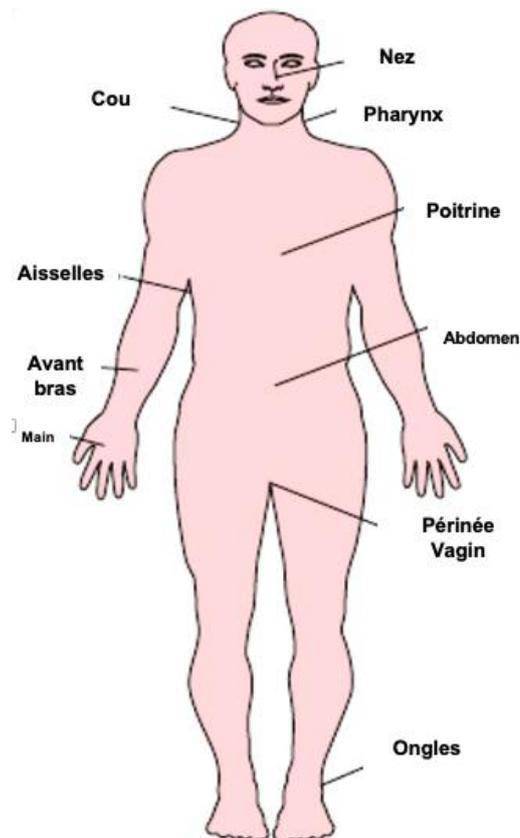


Figure 1.10 : Représentation du portage de *S. aureus* chez l'homme sain [150].

b. Portage nasal de *S. aureus*

1. Types du portage nasal

Trois schémas de transport nasal ont été identifiés à la suite d'études épidémiologiques menées sur des périodes s'étendant de 12 semaines à 3 ans chez des volontaires sains soumis à des prélèvements répétés. Le premier schéma correspond à un statut de portage nasal permanent (porteurs persistants), qui concerne environ 20% de la population humaine. Il se caractérise par une colonisation persistante de plusieurs mois, voire plusieurs

années, par la même souche de *S. aureus*. Le deuxième schéma concerne 50% de la population et correspond à un statut de non-portage, où les individus ne portent pas activement la bactérie dans leur nez. Enfin, le troisième schéma représente un portage nasal intermittent, avec des souches de *S. aureus* qui varient au fil du temps et sur des périodes relativement courtes [151], [152], [153].

c. Facteurs de risque individuel de la colonisation par *S. aureus*

La littérature a rapporté plusieurs facteurs ayant un impact sur la colonisation nasale par *S. aureus*. Ces études ont évoqué l'implication de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), l'obésité, le diabète, l'hémodialyse et le tabagisme. Une haute prévalence a également été décrite chez des patients ayant des maladies comme la polyarthrite rhumatoïde, la granulomatosis avec polyangéite, la dermatite atopique, la furonculose récurrente, les infections cutanées des tissus mous. Le secteur de la santé semble également concerné par cette prévalence élevée de portage nasal [154], [155], [156].

Néanmoins, sur le plan génétique aucune corrélation n'a été observée entre la colonisation par *S. aureus* et le matériel génétique de l'hôte où aucune hérédité significative n'a été notée dans les études sur les jumeaux et les familles [157], [158]

d. Implication du portage nasal dans les infections

La colonisation nasale par *S. aureus* a été identifiée comme un facteur de risque majeur pour le développement d'infections staphylococciques. Le portage nasal augmente le risque d'infection de 2 à 10 fois. Ces infections peuvent prendre diverses formes, telles que des infections du site chirurgical résultant d'opérations orthopédiques ou cardiaques, des bactériémies chez les patients non chirurgicaux, des infections liées aux cathéters chez les patients en dialyse, ainsi que des infections à *S. aureus* chez les patients atteints du VIH. Elles peuvent également inclure des infections à *S. aureus* associées à l'unité de soins intensifs, et englober des cas de furonculoses, d'impétigo récurrents, ainsi que les infections de l'ulcère du pied diabétique [159].

1.4.4. S. aureus résistant à la méticilline

Depuis le premier isolement de SARM au début des années 1960, les souches de SARM se sont propagées dans le monde entier et ont engendré d'innombrables éclosions nosocomiales, faisant du SARM l'une des causes les plus courantes d'infections nosocomiales [160]. Le rapport de 2024 met en évidence que le SARM continue d'être l'une des principales causes d'infections résistantes dans les hôpitaux, rendant les infections comme les bactériémies et les infections de plaies particulièrement difficiles à traiter. La résistance aux antibiotiques de dernière ligne, comme les carbapénèmes, reste une préoccupation majeure, augmentant les risques de complications graves voire de décès en raison d'infections intraitables [161].

a. SARM associé à l'hôpital

Ce sont des souches associées à des infections nosocomiales et très souvent résistantes aux agents antimicrobiens non lactames, en particulier les aminoglycosides, les macrolides, les lincosamides et les fluoroquinolones. Elles sont porteuses de SCCmec de type I, II ou III et possèdent rarement des gènes qui codent pour la PVL [16].

L'analyse du fond génétique des souches de SARM par la technique de typage multi-locus (MLST) a révélé que les souches associées aux infections nosocomiales SARM-HA appartiennent à cinq CC distincts CC5, CC8, CC22, CC30 et CC45 appartenant à plusieurs ST (séquences types). ST5 (clone new yorkais et japonais), ST239 (Hongrie) et 247 (Ibérie et Brésil), ST247 (Italie) et ST228 (Allemagne) [162], [163], [164].

D'après la revue de littérature réalisée par Mairi et al., (2020) [165], des taux élevés de SARM-ST80 ont été enregistré en Algérie.

Selon une étude menée par Djoudi et al., (2015) [4], 96 % des souches de SARM isolées de nouveau-nés et d'enfants à l'hôpital de Beni-Messous (Alger) ont été attribuées au clone ST80. À Alger, Antri et al., (2018) [166] ont signalé que le

SARM-ST80 était responsable de plus d'un tiers des infections communautaires (35,7 %) et des infections hospitalières (35,8 %) à l'hôpital Mustapha Pacha (Alger).

A l'ouest, à Annaba plus précisément, 21% des souches SARM isolées d'infections cutanées et des tissus mous et 13,7 % des souches de SARM isolées des infections à pied diabétiques ont été caractérisées comme étant du clone ST80. Une étude a signalé un taux de 65 % des souches ST80 isolées d'un milieu hospitalier. Tandis qu'à Bejaia ça été rapporté que 44,5 % des souches totales de SARM isolées du transport nasal des patients admis dans un hôpital général et une salle d'hémodialyse ont été identifiées comme SARM-ST80) [165].

b. SARM associé à la communauté

Le SARM-CA est épidémiologiquement, cliniquement et génétiquement différent du SARM associées aux soins de santé. Bien que les souches de SARM-CA puissent causer des infections nosocomiales et que les souches de SARM-HA circulent dans la communauté. Les infections à la SARM-CA ont tendance à se produire chez des patients plus jeunes en bonne santé atteints d'infections cutanées et des tissus mous. De telles souches peuvent être sensibles à une gamme plus large d'ATB et abritent généralement le chromosome de SCCmec de type IV ou V. L'épidémie mondiale de SARM-CA continue d'évoluer et le potentiel déplacement des clones épidémiques au niveau local, national et international présente un grand intérêt [97].

Les SARM communautaires ont différentes origines et des répartitions géographiques relatives. Ils diffèrent par la diversité des séquences types associées à ces SARM: ST8 (USA300) et ST1 (USA400) qui sont les plus retrouvés aux ÉtatsUnis , ST30 dans la région du Pacifique occidental, ST80 en Europe, ST93 ou encore ST59 dans la région Asie-Pacifique. Ils sont généralement plus virulents que les isolats hospitaliers, cela est dû à leur capacité à échapper au système immunitaire, notamment grâce à la production de toxines telles que la PVL, les modulines solubles dans le phénol, ainsi que

l'alpha-toxine. De plus, ces souches ont tendance à présenter une sensibilité accrue aux ATB, à l'exception des bêtalactamines [167], [168].

c. SARM associé à l'animal

Le contact étroit entre les humains et les animaux, ainsi que l'utilisation d'ATB chez ces derniers, a conduit à l'émergence des souches de SARM chez les animaux, en particulier les animaux de compagnie. Les souches retrouvées chez ces animaux de compagnie présentent une similitude génétique marquée avec celles isolées chez les humains. En revanche, les SARM retrouvés chez les animaux destinés à l'alimentation semblent avoir évolué de manière indépendante et ne correspondent pas aux souches hospitalières ou communautaires [169], [170]. Le clone LA-SARM le plus répandu est le ST398, initialement identifié chez le porc et ensuite retrouvé chez d'autres animaux de production tels que le bœuf et le poulet.

Ces souches ST398 sont caractérisées par une faible virulence et une transmission limitée entre les humains [171], [172], [173]

d. Prévention des infections

Des mesures sont à mettre en place pour contrôler la propagation du SARM. Cela inclut des pratiques d'hygiène des mains visant à réduire la transmission du SARM par contact avec des surfaces contaminées, ainsi que des méthodes de dépistage et de surveillance active pour repérer les patients porteurs asymptomatiques pouvant présenter d'importants réservoirs contribuant dans l'émergence de l'agent microbien et les orienter vers une décolonisation. La décolonisation pourrait contribuer au contrôle du SARM en réduisant la transmission et le risque d'infection. Les précautions de contact (utilisation de blouses et de gants jetables) lors de la prise en charge des patients colonisés par le SARM et l'isolement des patients colonisés contribuent à réduire la transmission [174], [175], [176], [177].

CHAPITRE 2

ETUDE EXPERIMENTALE

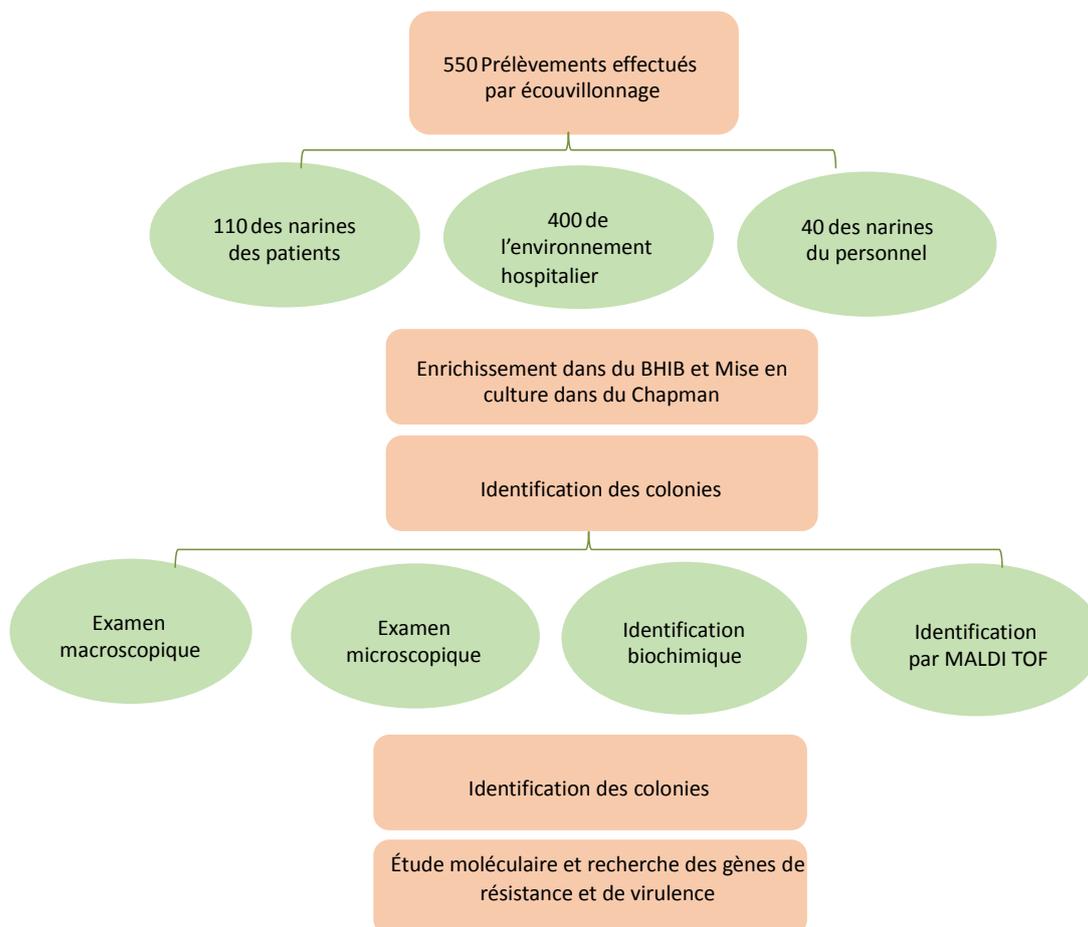


Figure 2.1 : Étapes de la démarche expérimentale.

2.1. Cadre de l'étude

Nous avons mené une étude couvrant la période de novembre 2020 à mai 2021, axée sur l'épidémiologie, la caractérisation phénotypique et moléculaire de la résistance aux ATB, ainsi que l'évaluation de la virulence des souches de *S. aureus*. Cette investigation a porté sur les contaminations environnementales à l'hôpital et la colonisation nasale des isolats de *S. aureus* responsables

d'infections dans trois services : le service de Chirurgie Orthopédique, de Chirurgie Générale et de Soins Intensifs d'un hôpital situé dans la partie ouest de l'Algérie, à Oran.

Une première identification phénotypique des souches a été réalisée au moyen de méthodes conventionnelles et confirmée ultérieurement par la spectrométrie de masse Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation/Time Of Flight .

La sensibilité aux ATB a été déterminée pour 16 ATB avec la méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton avec l'utilisation de l'automate Scan® 4000 lecteurs de zones d'inhibition ultra HD pour la lecture numérique des antibiogrammes. Par la suite, une identification moléculaire au moyen d'un triplex PCR en temps réel, a été réalisée pour toutes les souches de *S. aureus* et ce afin d'identifier les gènes de résistance à la méticilline : *mecA* et *mecC*, typer la cassette chromosomique SCCmec et aussi identifier les gènes de virulence *pvl* et *tsst-1*. Par la suite une PCR standard a été effectuée chez les souches ayant exprimé une résistance inductible à la clindamycine pour identifier les gènes *ermA*, *ermB*, *ermC*, *ermT* et *msrA*. Un WGS a également été réalisé pour ces souches et un pangénome a été réalisé afin de comparer entre les souches issues de l'environnement hospitalier et les souches provenant du portage nasal. Les différentes étapes sont résumées dans la figure 2.1.

2.2. Collecte d'échantillons et de données

Au total 550 prélèvements ont été collectés. 400 échantillons provenaient de l'environnement hospitalier (différentes surfaces et matériel biomédical), 110 proviennent des narines des patients admis dans les services cités précédemment et

40 du personnel soignant. Les patients inclus dans l'étude ont tous été programmés pour une intervention chirurgicale dans les services sélectionnés et ont été prélevés dans les 24h à 48h suivant leur admission. Tout patient ayant dépassé ce terme a été exclu de l'enquête (malgré sa programmation pour une intervention).

Tous les patients prélevés ont donné leur consentement avant d'être prélevés. Les données démographiques recueillies (tel que nom prénom, l'âge, la date d'hospitalisation, le contexte clinique, wilaya de provenance, les antécédents d'hospitalisation ...) sur une fiche de renseignement sur chaque patient sont :

Les surfaces environnementales et le matériel biomédical sont nettoyés chaque matin avant notre arrivée aux services.

2.2.1. Distribution de la population étudiée selon le service d'admission

Au total 110 patients ont été prélevés ; dont 74 (67%) patients étaient admis dans le service de chirurgie générale et 36 (33%) dans le service de chirurgie orthopédique.

2.2.2 Caractérisation du personnel soignant

Au total 40 personnes du personnel soignant de diverses catégories professionnelles (Orthopédistes, Chef de bloc, Anesthésistes, Chirurgiens...) travaillant dans les deux services ont été soumis au dépistage.

2.2.3 Caractérisation de l'environnement hospitalier prélevé

a. Caractérisation des surfaces

En ce qui concerne les surfaces hospitalières, les lits des patients, les salles d'attente et les couvercles les poubelles de soins ont été les plus fréquemment échantillonnés (voir tableau 2.1)

b. Caractérisation du matériel biomédical

En ce qui concerne le matériel biomédical, les laryngoscopes et les drains de Redon ont été les plus fréquemment échantillonnés. Le détail des prélèvements du matériel biomédical est mentionné dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Détail de l'échantillonnage environnemental en fonction du site d'isolement.

Site d'isolement	Nombre de surfaces
Surfaces humides	32
Lits de patients	30
Supports à sérum	20
Chariots chirurgicaux	30
Poignées de portes	30
Bancs d'attente	42
Sol d'Unité de soins intensifs	13
Interrupteurs	20
Couvercles de poubelles	30
Plateaux chirurgicaux	10
Pinces et ciseaux chirurgicaux	13
Bureaux de médecins	5
Tables d'opération	11
Respirateurs USI	13
Laryngoscope	30
drains de Redon	30
Poches de cathéter urinaire	20
Scopes de bloc	16
Scopes USI	5
Total	400

2.3. Étude bactériologique

2.3.1. Prélèvements

a. Prélèvements environnementaux

Selon la norme ISO / DIS 14698-1, la technique utilisée permet la recherche des germes sur des surfaces planes ou même dans les zones non planes à accès difficile (comme les chariots, les lits, les tuyaux respiratoires etc. Les échantillons ont été prélevés à l'aide d'écouvillons en coton stériles préalablement humidifiés avec une solution physiologique (NaCl 0,9%) stérile. L'écouvillonnage a été appliqué par des bandes parallèles en faisant légèrement

tourner l'écouvillon puis, par des bandes perpendiculaires sur la même zone [178].

b. Prélèvements nasaux

Les écouvillons humidifiés ont été introduits et enfoncés d'un à deux centimètres dans la narine antérieure en frottant délicatement à plusieurs reprises sur la muqueuse. Le même écouvillon a été utilisé pour les deux narines [24].

Les deux types prélèvements ont été placés dans des étuis et ont été rapidement transférés au laboratoire de Microbiologie Appliquée, Université Ahmed Benbella Oran 01 pour y être analysés.

2.3.2. Mise en culture

Un enrichissement initial a été réalisé pour chaque prélèvement dans du Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (BioMérieux, Mercy l'Etoile, France) pendant 18h à 24h à une température de 37°C. Par la suite, nous avons réalisé un ensemencement sur gélose Chapman-Mannitol Salt Agar (BioMérieux, Mercy l'Etoile, France) par la méthode des quatre cadrans. Les boîtes ont été incubées à 37°C pour une durée de 48h.

2.3.3. Identification des colonies

Nous avons commencé par une purification où un repiquage sur Gélose Nutritive (BioMérieux, Mercy l'Etoile, France) a été fait.

Une fois que nous avons obtenu une culture pure, nous avons examiné l'aspect des colonies en se basant sur des critères macroscopiques tels que la forme, la couleur, la taille, le bord, l'élévation et la surface.

2.4. Examen macroscopique

Nous avons procédé à des tests bactériologiques pour chaque colonie suspecte présentant une pigmentation jaune doré, une apparence lisse et une

forme relativement grande et bombée, avec une dégradation du mannitol observée sur le milieu Chapman.

2.5. Coloration de Gram et examen microscopique

Chaque souche purifiée suspecte a fait l'objet d'un frottis et d'une coloration de Gram. Ensuite, une observation au microscope optique à l'immersion a été effectuée avec un grossissement de 10x100. Dans le cas d'une observation de cocci ronds, Gram positifs, en diplocoques ou groupés en amas (grappes de raisins), nous avons suspecté la présence de *Staphylococcus sp.*

2.6. Identification biochimique

2.6.1 Test de catalase

La catalase catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en H₂O et O₂ selon la réaction :



H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

H₂O : eau

O₂ : gaz d'oxygène

Sa recherche nous a permis de distinguer les *Staphylocoques* (catalase +) des *Streptocoques* (catalase -).

Pour réaliser cette recherche, une goutte d'eau oxygénée a été déposée sur une lame, à laquelle des colonies bactériennes ont été ajoutées. L'apparition immédiate de bulles d'air indique la présence de cette enzyme.

Dans le but de différencier entre *S. aureus* et les *Staphylocoques* à coagulase négative on a effectué les tests suivants : test de la coagulase libre, test de la désoxyribonucléase (DNase) et le test d'agglutination (Staphaurex).

2.6.2. Test de coagulasse libre

Ce test met en évidence la capacité de *S. aureus* à coaguler le plasma sanguin en libérant la coagulasse dans le milieu extérieur. Cette enzyme active la prothrombine et la transforme en thrombine, qui à son tour, transforme le fibrinogène en fibrine et conduit à la formation d'un caillot sanguin par prise en masse du plasma [28].

Pour la recherche de la coagulase, un mélange composé d'une suspension dense de la souche à identifier et de plasma humain a été réalisé dans un premier tube, en respectant un volume équivalent (0,5 ml pour chacun). De même, dans un deuxième tube, la souche à identifier a été remplacée par une souche de référence ATCC 25923 fournies par l'hôpital Mustapha Pacha pour servir de contrôle positif. Le troisième tube, ne contenant que du plasma humain, a servi de contrôle négatif. Les trois tubes ont été incubés pendant 24 heures à 37°C. Un résultat positif est révélé par l'apparition d'un caillot lors de l'inclinaison du tube à 90°.

2.6.3. Test de Désoxyribonucléase

Ce test consiste à déterminer la capacité d'un organisme à hydrolyser l'ADN et à l'utiliser comme source de carbone et d'énergie pour la croissance. Il est utilisé principalement pour la différenciation entre *S. aureus* et les autres *staphylocoques* en fonction de leur activité DNase. La production de cette enzyme, comme la thermonucléase constitue un critère de différenciation des autres espèces.

Sur la gélose ADN (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France), des stries courtes de la culture de la souche à identifier ont été réalisées, en compagnie de souches témoins (positif et négatif). Cette boîte de Pétri a été incubée pendant 24 heures à 37 °C. À la fin de l'incubation, la boîte de Pétri a été aspergée avec une solution d'HCl. L'acide chlorhydrique a pour effet de précipiter l'ADN polymérisé, opacifiant ainsi le milieu. Cependant, les microorganismes qui dégradent l'ADN produisent une zone claire autour de la zone de croissance.

L'apparition d'un halo clair autour des stries met en évidence l'absence d'ADN qui a été hydrolysé, indiquant ainsi que les bactéries sont DNase positives [179].

2.6.4. Test d'agglutination au latex par PASTOREX STAPH PLUS

Ce test rapide consiste à détecter simultanément le facteur d'affinité par fibrinogène « Clumping Factor », des polysaccharides capsulaires et la protéine A. Pour réaliser ce test, les réactifs ont été homogénéisés dans le boîtier, puis une goutte de réactif latex test a été déposée sur la carte fournie dans le kit, dans un des cercles, et une goutte du témoin négatif sur un autre cercle. À l'aide d'un bâtonnet en plastique ou d'une boucle d'inoculation, une à trois colonies ont été prélevées et émulsionnées avec la goutte du réactif test. Le même processus a été suivi pour le réactif latex témoin négatif. Un mouvement rotatif a été effectué sur la carte pour homogénéiser. La lecture a été réalisée après 30 secondes suivant l'homogénéisation, de la manière suivante :

- Si la suspension garde son aspect laiteux cela indique un résultat négatif,
- Une formation d'agrégats bien visible à l'œil nu avec le latex test indique un résultat positif (présence de *S. aureus*),
- Dans le cas d'une agglutination du réactif contrôle négatif, résultat non interprétable.

2.7. Conservation et repiquage des souches

2.7.1. Conservation des souches

Les isolats ont été conservés après la réalisation d'une piqure centrale dans des tubes contenant des milieux gélosés de conservation et ce pour toutes les souches ayant été identifiées comme étant des *S. aureus*. Cette conservation a été faite afin de transporter les isolats en vue de réaliser des analyses moléculaires ultérieures au sein du laboratoire des agents antimicrobiens et résistance, surveillance et stratégies thérapeutiques, Equipe 6 UMR D-258, Microbes, Evolution, Phylogénie et Infection (MEPHI) à Aix-Marseille Université (AMU), Institut de Recherche pour le Développement (IRD).

Nous avons sollicité la société DHL de transport et de logistique pour l'envoi de nos tubes de conservations à l'IHU de Marseille, France.

2.7.2. Repiquage des souches

Pour revivifier les souches transportées, deux repiquages consécutifs ont été effectués. Le premier repiquage a été réalisé dans le milieu liquide BHIB (BioMérieux, Mercy l'Etoile, France), suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 heures. Ensuite, le deuxième repiquage a été effectué dans une gélose Chapman (BioMérieux, Mercy l'Etoile, France), avec une incubation à 37°C pendant 18 heures.

2.8. Identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF

La confirmation de l'identification des souches a été réalisée en se basant sur leur composition protéique totale à l'aide d'un spectromètre de masse MALDI-TOF (Microflex, Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

Ce spectromètre de masse utilise une source d'ionisation laser assistée par une matrice pour l'analyse des échantillons MALDI-TOF [180].

2.8.1. Principe de MALDI-TOF

Dans cette analyse, les échantillons sont préparés en mélangeant les échantillons avec une matrice, ce qui entraîne la cristallisation de l'échantillon dans la matrice. La matrice est composée de petites molécules d'acide qui ont une forte absorption optique dans la gamme de la longueur d'onde du laser utilisé. La composition de la matrice varie en fonction de la biomolécule à analyser et du type de laser utilisé [181]. Les matrices les plus fréquemment utilisées sont l'acide 2,5dihydroxybenzoïque (DHB), l'acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (CHCA), l'acide sinapinique (SA), l'acide férulique (FA) et l'acide 2,4-hydroxy-phényl benzoïque. Le FA, le SA et le CHCA se sont avérés efficaces pour la détection de biomarqueurs de protéines. Tandis que le DHB semble être le meilleur choix pour la détection des glycopeptides et des glycoprotéines. Le DHB et CHCA sont le plus souvent optimale pour la détection des ions de faible masse avec une détection jusqu'à 10 kDa en utilisant le bon solvant [181], [182], [183], [184].

En pratique, un échantillon microbien est mélangé avec une matrice sur une plaque métallique conductrice. Le mélange peut être déposé sur le support métallique ou bien l'échantillon microbien est déposé et séché sur le support avant d'être analysé. Après la phase de cristallisation de la matrice et du composé, la cible sur la plaque métallique est insérée dans le spectromètre de masse où elle est bombardée par de brèves impulsions laser provenant généralement d'un laser à azote. La matrice absorbe l'énergie du laser, ce qui conduit à la désorption des composés à analyser qui sont ensuite vaporisés et ionisés dans la phase gazeuse. Cette désorption et cette ionisation des constituants assistées par la matrice conduisent à la formation d'ions d'échantillon à charge unique prédominante. Les molécules désorbées et ionisées sont d'abord accélérées par un champ électrostatique, puis éjectées à travers un tube de vol métallique soumis à un vide, puis sont éjectées jusqu'à ce qu'elles atteignent un détecteur, les ions les plus petits passant plus rapidement que les gros ions. Le TOF nécessaire pour atteindre le détecteur dépend de la masse (m) et de la charge (z) du bioanalyte et est proportionnel à la racine carrée de m/z . Ainsi, les bioanalytes ayant des m/z différents qui composent un échantillon complexe sont séparés en fonction de leur TOF et créent un spectre de masse qui est caractérisé à la fois par le m/z et l'intensité des ions, c'est-à-dire le nombre d'ions d'un m/z particulier qui ont touché le détecteur. Le résultat d'une signature spectrale est composé de pointes allant généralement de 1000 à 20 000 m/z . Habituellement, MALDI-TOF produit des ions à charge unique ($z = 1$) et donc le m/z d'un analyte correspond à la valeur de sa masse. La fiabilité d'une identification bactérienne est mesurée par un score d'identification qui est supérieur à 1.9 [185] et l'acquisition des spectres se lance automatiquement avec le logiciel Flex Control.

Le principe du MALDI-TOF est brièvement schématisé dans la Figure 2.2.

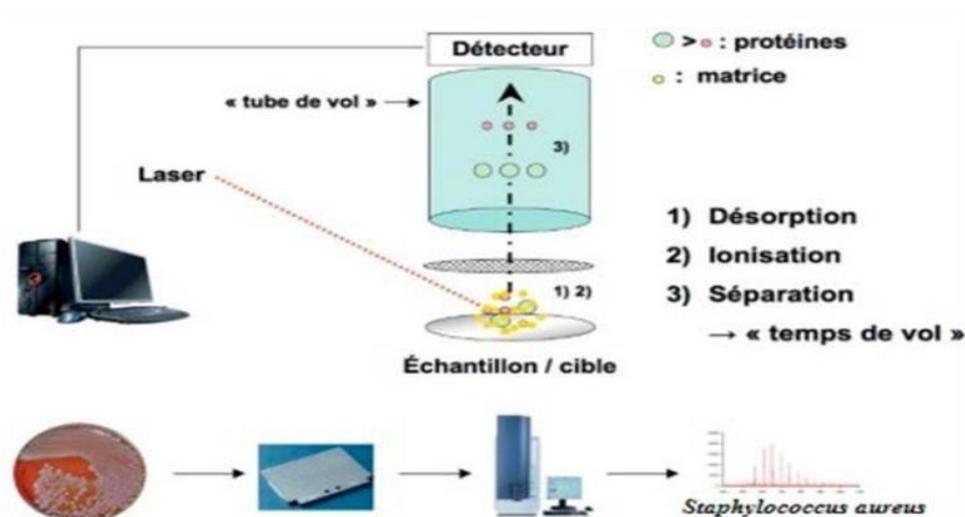


Figure 2.2 : Principe de la spectrométrie de masse [186].

2.8.2. Protocole d'identification par MALDI-TOF

Pour identifier les souches bactériennes, un protocole expérimental est appliqué comme suit :

a. Nettoyage de la cible (plaque MALDI-TOF)

C'est une plaque de composition métallique munie de 96 spots. Son nettoyage consiste à laver la plaque à l'eau chaude puis verser dessus de l'éthanol 70% pour ensuite frotter avec du papier buvard. Nous la plongeons par la suite dans de l'éthanol durant 15 min, puis nous avons frotté avec 500 μ l d'acide trifluoroacétique à 80% pour finalement rincer avec de l'eau déionisée stérile et nous avons laissé sécher à l'air libre.

b. Préparation de la matrice

Avant chaque série d'analyses, il est impératif de préparer la matrice sous hotte chimique en portant des gants et celle-ci doit être stockée à l'abri de la lumière à une température de 4°C.

Pour 1 ml de Matrice :

- Introduire 2 pointes de spatules d'alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acide (HCCA).
- Ajouter 500 μ l d'acétonitrile HPLC.
- Ajouter 250 μ l d'eau HPLC.

- Ajouter 250 µl d'Acide Trifluoroacétique 10%.
- Vortexer vigoureusement.
- Soniquer 10 min puis centrifuger 5 min à 13000 g.
- Transférer que le surnageant dans un tube polypropylène 1.5 mL.
- Préparation du témoin positif (*Escherichia coli*).
- Mélanger 475 µl d'eau HPLC, 25 µl d'acide trifluoroacétique + 500 µl d'acétonitrile HPLC.
- Mettre 500 µl de cette solution dans un tube Bacterial Test Standard.
- Laisser reposer le tube fermé 5 min.

c. Réalisation des dépôts sur cible

- Compléter le plan de dépôts (Voir annexe A, Tableau S1).
- Sous poste de sécurité microbiologique et avec des gants, nous avons déposé sur la même colonne de la plaque métallique servant de cible mais différentes lignes 2 spots de 1,5 µl témoin positif et 2 spots de témoins négatif (composé de matrice uniquement) puis recouvrir de 1.5 µl de matrice saturée.
- Déposer sur les autres spots une fine couche homogène d'échantillon à analyser (prélever à l'aide d'un cône de pipette une petite quantité de colonies bactériennes à partir d'une culture bactérienne de 24h) en deux exemplaires minimums,
- Une fois tous les dépôts effectués déposer 1.5 µl de matrice sur chaque spot,
- Laisser sécher sous le poste de sécurité microbiologique.

Le reste des étapes (l'Introduction de la cible MALDI TOF dans le spectromètre de masse Microflex LT, le lancement de l'acquisition MALDI-TOF-MS, la visualisation des résultats et la Validation des résultats) est détaillé dans l'annexe B.

2.9. Étude de la sensibilité aux antibiotiques

2.9.1. Antibiogramme

La méthode de diffusion des disques d'ATB sur un milieu gélosé Mueller Hinton (Beckton Dickinson, Rungis, France) a été employée conformément aux directives du Comité européen sur les tests de sensibilité aux antimicrobiens (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST).

En utilisant un écouvillon stérile et à partir d'une suspension microbienne à 0,5 de l'échelle de MacFarland, nous avonsensemencé notre gélose MH en suivant le panel (Voir annexe C, Figure S2). Ensuite, nous avons déposé 16 disques d' ATB à la surface de ces cultures: pénicilline (6 µg), céfoxitine (30 µg), oxacilline (5 µg), rifampicine (30 µg), clindamycine (2 µg), érythromycine (15 µg), pristinamycine (15 µg), gentamicine (15 µg), vancomycine (30 µg), teicoplanine (30 µg), doxycycline (30 µg), fosfomycine (200 µg), ciprofloxacine (5 µg), acide fusidique (10 µg), linezolid (10 µg) et triméthoprime/sulfaméthoxazole (10 µg) en utilisant un distributeur automatique; nous avons incubé les boîtes à 37°C pendant 18 à 24h.

Pour chaque échantillon une photo de l'antibiogramme est visualisée (Voir annexe D, Figure S3) accompagnée d'un fichier Excel (Voir annexe E, Tableau S4) contenant les mesures et l'interprétation des diamètres d'inhibition autour des disques d'ATB et ce selon les bases de données standardisées EUCAST à l'aide du

Scan® 4000 (Interscience) Figure 2.3 qui permet de mémoriser et d'analyser les résultats en quelques secondes. La sensibilité au contact de l'ATB est rapide et la visualisation des résultats est claire :

- Rouge : résistant R.
- Jaune : Intermédiaire I.
- Sensible : sensible S.

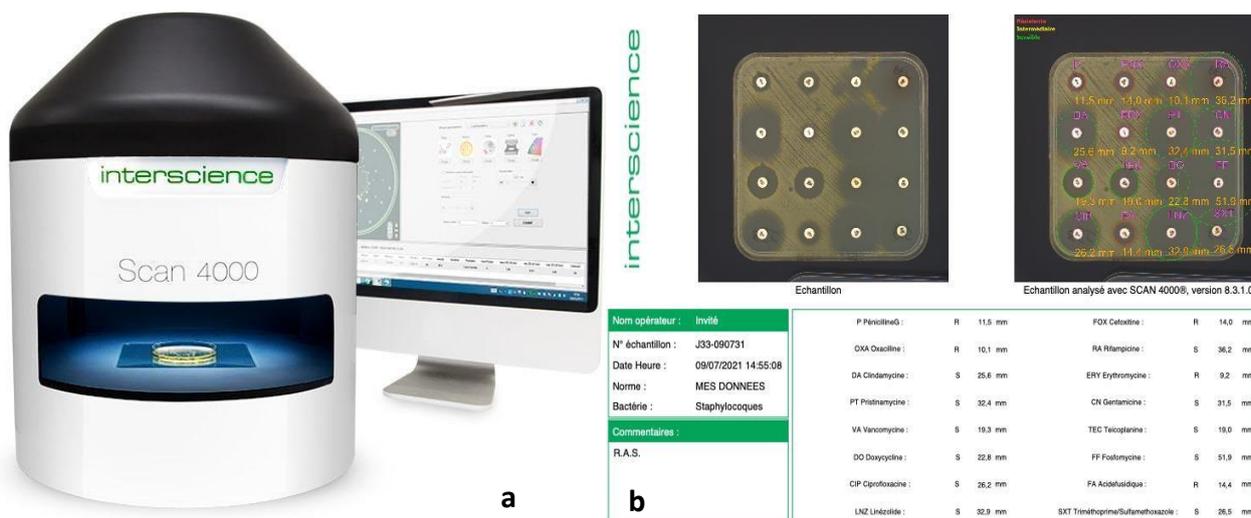


Figure 2.3 : Antibiogramme sur Scan® 4000 (Interscience), a- appareil du Scan, b-résultat de l'antibiogramme affiché sur l'écran du Scan.

2.9.2. Multiexperiment Viewer (MeV)

Les résultats de l'antibiogramme sont représentés à l'aide du logiciel MeV. Les souches résistantes (R) et sensibles (S) sont remplacées par un code binaire 1 et -1 respectivement.

2.9.3. Détection phénotypique de la résistance inductible à la clindamycine « iMLSB »

Selon Khan et al., (2020) [187] pour détecter ce type de résistance, un test de diffusion sur double disque (test D) a été réalisé. Lors de la mise en place des disques d'ATB pour l'antibiogramme, nous avons disposé un disque d'ATB de clindamycine (2 µg) et un disque d'érythromycine (15 µg) à une distance de 15 à 20 mm l'un de l'autre dans chaque boîte. Trois phénotypes ont été interprétés en suivant les directives du CLSI 2014 (Figure 2.4).

- Test D négatif avec un phénotype de la streptogramme de type B (MSB) des macrolides : résistance à l'érythromycine (taille de la zone ≤ 13 mm) et sensibilité à la clindamycine (taille de la zone ≥ 23 mm) avec une zone circulaire d'inhibition autour de la clindamycine.
- Test D positif avec phénotype iMLSB : résistance à l'érythromycine (taille de zone ≤ 13 mm) et sensible à la clindamycine (taille de zone ≥ 23 mm) avec zone d'inhibition en forme de D autour de la clindamycine.

- Phénotype Macrolides Constitutifs-Lincosamide-Streptogramine B (cMLS_B) : résistance à la fois à l'érythromycine (taille de zone ≤ 13 mm) et à la clindamycine (taille de zone ≤ 14 mm) avec zone circulaire d'inhibition conformément aux directives du CLSI 2014.

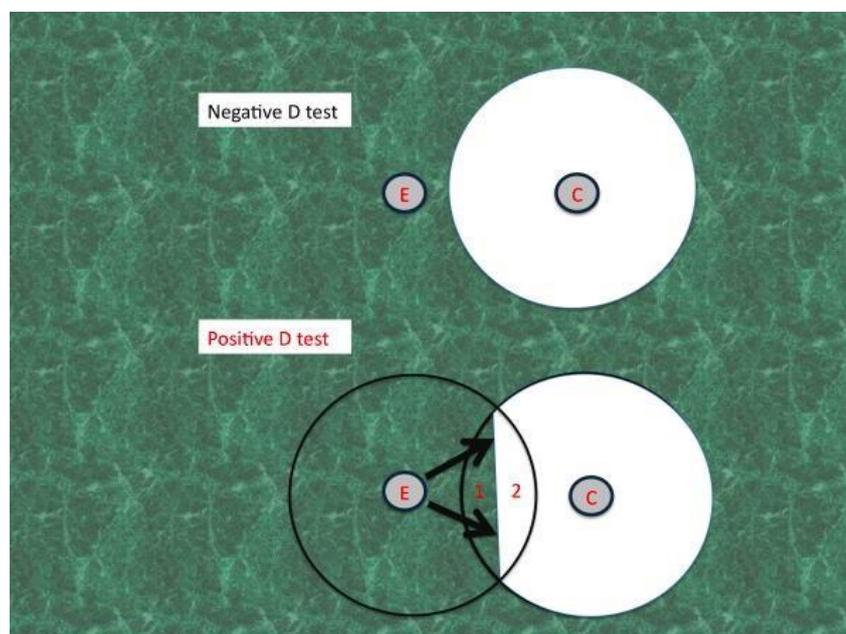


Figure 2.4 : Schématisation des phénotypes iMLS_B résultants du test D.

2.10. Étude moléculaire et recherche des gènes

2.10.1. Extraction de l'ADN à partir des cultures bactériennes

Dans cette étude, l'extraction de l'ADN des 92 isolats de *S. aureus* provenant des trois sources de prélèvements (voir Tableau 2.2) a été automatisée via un kit d'extraction tissus EZ1® ADN (Qiagen, Courtabœuf, France) avec l'extracteur EZ1 avancé XL et la carte de bactéries d'ADN (Qiagen).

Tableau 2.2 : Origines des souches séquencées.

Source	Environnement hospitalier	Patient	Personnel médical
Nombre	51	29	11

Le protocole expérimental consiste à pipeter dans un tube Eppendorf stérile de 1,5 ml, 200 μ l de solution tampon avec 10 μ l de Protéinase K. Ensuite

nous avons fait dissoudre quelques colonies bactériennes d'une culture pure et homogénéiser au vortex. Avant d'introduire les cartouches contenant les réactifs dans les rails du support, nous avons homogénéisé par simple rotation pour mener l'extraction dans de bonnes conditions.

Les cartouches du Kit d'extraction sont insérées dans l'appareil QIAGEN. Ensuite, les tubes de mixtes sont positionnés dans la position marquée "1", les tubes d'élution dans la position "3", et les tubes Eppendorf à icône dans la position "4". La fente "2" reste vide. Une fois l'appareil fermé (comme illustré dans la Figure 2.5), l'extraction est lancée.

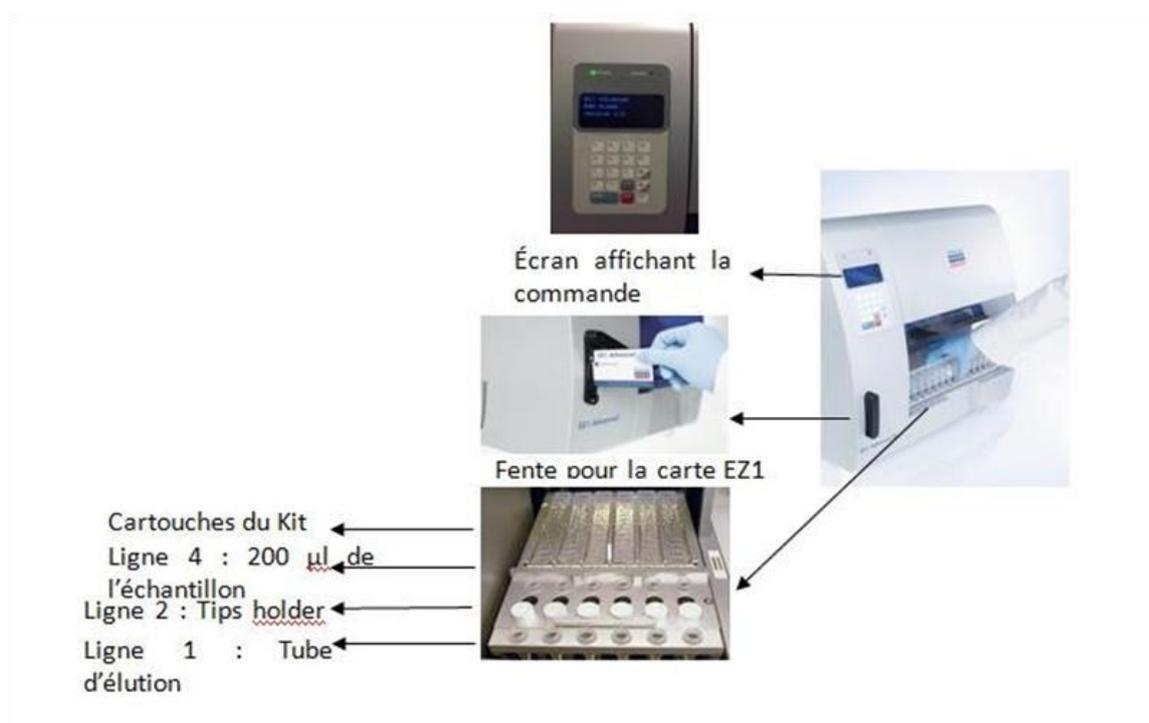


Figure 2.5 : Procédure d'extraction par EZ1.

2.10.2. Polymerase Chain Reaction

Dans cette étude, la PCR en temps réel a été utilisée pour l'amplification et la détection des gènes qui codent pour la résistance à la méticilline (*mecA* et *mecC*), la TSST-1, la PVL et le typage de la cassette chromosomique SCCmec.

Les différentes amorces que nous avons utilisées sont regroupées dans le Tableau 2.3 quant au mélange réactionnel utilisé, il est détaillé dans le Tableau 2.4.

Tableau 2.3 : Amorces utilisées dans la RT-PCR et leurs tailles.

Gène	Séquences d'amorce (5' → 3')	Taille (bp)	Référence
<i>mecA</i>	Forward : GATTATGGCTCAGGTACTGCTATCC Reverse : TTCGTTACTCATGCCATACATAAATG Probe:CCCTCAAACAGGTGAATTATTAGCACTTGTAAGCA	333	[188]
<i>mecC</i>	F : GCAAGCAATAGAATCATCAGACAAC R : TCTTGCATACCTTGCTCAAATTTT P : CCGCATTGCATTAGCATTAGGAGCCA	333	[188]
<i>pvl</i>	F : AAAATGCCAGTGTTATCCAGAGGTA R : TTTGCAGCGTTTTGTTTTCG P : CTTCAATCCAGAATTTATTGGTGT	433	[23], [189]
<i>tsst-1</i>	F : TCATCAGCTAACTCAAATACATGGATT R : TGTGGATCCGTCATTCATTGTT P : TCCAATAACCACCCGTTTTATCGCTTGAA	326	[23], [189]
<i>SCCmec I</i>	F : TTTGGCACGTAATACTTCCGATT R : AAAATTCAACATTTTGGCGATGA P : ACTTACAATAGTCGAAGAAC	613	[23], [189]
<i>SCCmec II</i>	F : AACGAGACGTGCCCAAGAAG R : CATCAGTTCATGTTTACTATTAGGTATTTTGTC P : ATTTGCCGCTGGGCT	398	[23], [189]
<i>SCCmec III</i>	F : ACAATCCACAGTCATTACAT R : AGTTACGACTTTTCTGTTTCA P : ACAAGTCACCGAACGCATCCAACAAA	280	[23], [189]
<i>SCCmec IV</i>	F : GAACAGACCTGAGCTCCAACGT R : TCGGTTTGTGTTTGTAGATCATAACACA P : ATGCAAAGAAGGCAATAT	493	[23], [189]
<i>SCCmec V</i>	F : TCTGGGAGTTCTGCCTGTCA R : TCACATTTGACGCAATCTGCT P : TGCTGAAGTCGTGCAACGCGTAATCA	325	[23], [189]

Tableau 2.4 : Mélange réactionnel utilisé pour les RT-PCR

Composants	Quantité RT-PCR
Quantitect Probe PCR Master Mix	10 μ l
Amorce Forward (0,02nmol/ μ l)	1 μ l
Amorce Reverse (0,02nmol/ μ l)	1 μ l
Sonde (0,002nmol/ μ l)	1 μ l
H ₂ O UTP	2 μ l
ADN bactérien à amplifier	5 μ l

L'amplification est effectuée dans un thermocycleur CFX (CFX 96 Bio-rad) selon le programme ci-dessous (Figure 2.6).

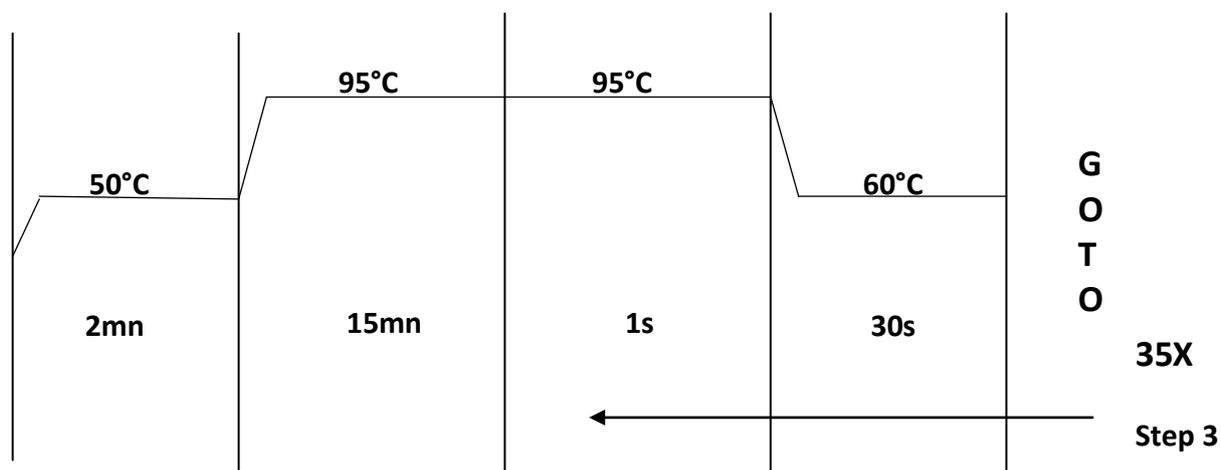


Figure 2.6 : Programme de RT-PCR utilisé.

La figure 2.7 résume le déroulement des étapes de la RT-PCR.

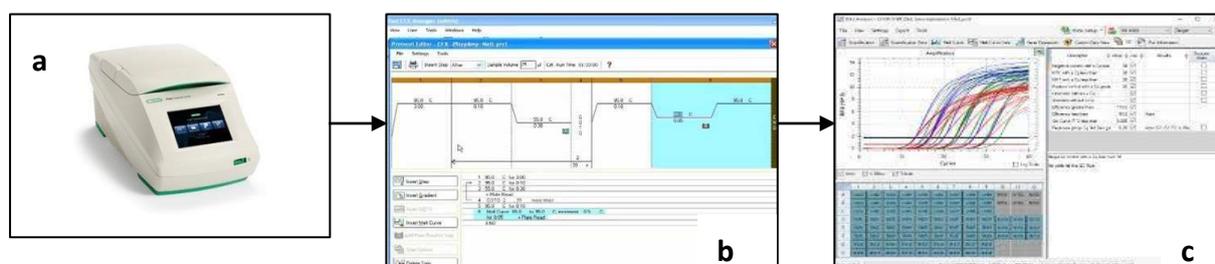


Figure 2.7 : CFX en temps réel : a-Mise des échantillons dans l'appareil de CFX, b Lancement du programme, c-Affichage des résultats sur l'écran sous forme de spectres.

2.10.3. Réaction de Polymérisation en Chaîne standard (conventionnelle)

Le mélange réactionnel et le protocole expérimental consistent à introduire les réactifs (mentionnés dans le tableau ci-dessous) dans un tube Eppendorf de 1,5 ml. Ensuite 25 µl du mélange réactionnel sont répartis dans des cupules PCR qui sont ensuite placés dans un thermocycleur (Labnet International Multigene Gradient Optimax Thermal Cycler Tc29600 G 1002066). Le programme du thermocycleur est mentionné ci-dessous (tableau 2.5).

Tableau 2.5 : Programme appliqué de la PCR standard.

Composants	Quantité PCR standard
Quantitect Probe PCR Master Mix	12,5 µl
Amorce Forward (0,02nmol/µl)	0,5 µl
Amorce Reverse (0,02nmol/µl)	0,5 µl
H ₂ O UTP (ultra pure)	6,5 µl
ADN à amplifier	5 µl

Les séquences d'amorce que nous avons utilisées, leurs tailles ainsi que les conditions (programme) des PCR sont mentionnées dans le tableau 2.6.

2.11. Séquençage du génome entier

Parmi notre collection bactérienne, nous avons retenu 22 souches pour un WGS. Ce choix s'est basé sur les profils de résistance, avec une priorité accordée aux souches présentant des profils SARM et/ou iMLSB. Le séquençage a été réalisé à l'aide de la plateforme MiSeq d'Illumina Inc (San Diego, CA, USA).

De cette sélection, 12 souches de *S. aureus* provenaient de sources environnementales, 7 ont été prélevées dans les narines des patients et 3 provenaient du personnel médical.

2.11.1. Extraction de l'ADN

L'ADN génomique (ADNg) a été extrait en deux étapes :

- Les souches ont été remises en suspension dans 160µl de G2 (Qiagen-EZ1 DNA tissue kit) et un traitement mécanique a été effectué par des billes de

verre lavées à l'acide (G4649-500g Sigma) en utilisant un instrument de broyage FastPrep-24™ 5G (mpBio) à la vitesse maximale (6.5) pour 90s.

- Ensuite, après une incubation de 30 min au lysozyme à 37°C (40µl/échantillon) (Sigma), l'ADN a été extrait sur le biorobot EZ1 advanced XL avec le kit EZ1 DNA tissues (Qiagen). Le volume d'élution est de 50µL. L'ADNg a été quantifié par un test Qubit avec le kit High Sensitivity Assay dsDNA (Thermofisher Scientific).

Tableau 2.6 : Amorces utilisées dans la PCR Standard et leurs tailles.

Gènes cibles	Séquences d'amorce (5'→3')	Taille (pb)	Conditions de la PCR avec nombre de cycles	Réf
<i>ermA</i>	F: GTTCAAGAAC AATCAATACA GAG R: GGATCAGGAAAAGGACATTT TAC	421	30 (30 s à 94°C ; 30 s à 52°C ; 1 min à 72°C)	[190]
<i>ermB</i>	F: CCGTTTACGAAATTGGAACAGGTAAAGGGC R: GAATCGAGACTTGAGTGTGC	359	30 (30 s à 94°C ; 30 s à 55°C ; 1 min à 72°C)	[190]
<i>ermC</i>	F: GCTAATATTG TTTAAATCGT CAATTCC R: GGATCAGGAAAAGGACATTT TAC	572	30 (30 s à 94°C ; 30 s à 52°C ; 1 min à 72°C)	[190]
<i>msrA</i>	F: GGCACAATAAGAGTGTTTAA AGG R: AAGTTATATCATGAATAGAT TGTCCTGTT	940	25 (1 min à 94°C ; 1 min à 50°C ; 90 s à 72°C)	[190]
<i>ermT</i>	F: ATTGGTTCAGGGAAAGGTCA R: GCTTGATAAAATTGGTTTTTGGGA	536	30 (1 min à 94°C ; 1 min à 72°C ; 5 m à 72°C)	[191]

2.11.2. Next Generation Sequencing NGS

L'ADN génomique a été séquencé sur la technologie MiSeq (Illumina Inc, San Diego, CA, USA) à l'aide du kit de préparation d'échantillons d'ADN Nextera XT (Illumina) avec la stratégie des extrémités appariées et a reçu un code-barres afin d'être mélangé à d'autres projets génomiques préparés. L'étape de marquage a fragmenté et a étiqueté chaque ADN extrait pour préparer la bibliothèque à extrémité jumelée. Pour préparer la librairie paired end, une dilution a été effectuée pour obtenir 1ng de chaque génome en entrée. L'étape de "tagmentation" a permis de fragmenter et de taguer l'ADN. Ensuite, une amplification PCR à cycle limité (12 cycles) a permis de compléter les adaptateurs de tags et d'introduire des codesbarres à double index. Après purification avec des billes AMPure XP (Beckman Coulter Inc, Fullerton, CA, USA) et selon le protocole Nextera XT (Illumina), toutes les bibliothèques ont été normalisées sur des perles spécifiques. Ces dernières ont été regroupées en une seule bibliothèque pour le séquençage sur le MiSeq. La bibliothèque monocaténaire groupée a été chargée sur la cartouche de réactif, puis sur l'instrument avec la cellule d'écoulement. La génération automatisée de clusters et le séquençage à extrémité appariée avec des lectures à double index ont été effectués en un seul passage de 39 heures en 2x250-bp avec le kit de réactifs Miseq (V2-500 cycles) (Illumina) (se référer figure 1.5 : Principe du séquençage Illumina [91]).

2.11.3. Description génomique

Pour chaque séquence/échantillon d'ADN de *S. aureus*, la qualité de chaque lecture Illumina a été vérifiée par FastQC et filtrée à l'aide du programme fastq-mcf. Les lectures ont ensuite été assemblées à l'aide du logiciel SPAdes (Galaxy version 3.12.0 + galaxy1) avec les fonctions par défaut [192]. Nous n'avons conservé que les contigs avec une taille minimale de 400 bp.

Par la suite, nous avons annoté nos séquences avec Prokka (Galaxy version 1.14.6 + galaxy1) [193]. Les résistances aux ATB ainsi que les virulences des souches ont été prédites par Abricate (dépistage de masse des contigs pour

les gènes antimicrobiens et de virulence) en utilisant ResFinder comme bases de données, tandis que le type SCCmec, la MLST et le typage Spa ont été déterminés à l'aide des différents outils du site Web du Center for Genomic Epidemiology [194], [195].

Afin d'étudier la similarité des souches séquencées et d'identifier les clusters au sein de notre collection, nous avons élaboré un pangénome en utilisant le logiciel Roary (version 3.13.0) avec les paramètres par défaut.

CHAPITRE 3

RESULTATS

3.1. Caractérisation de la population étudiée

Au cours de cette étude, 110 patients admis dans le service de chirurgie générale ou orthopédique ont été concernés par cette étude. Ce dépistage a été réalisé dans les 48h suivant leur hospitalisation.

3.1.1. Distribution des patients selon le sexe

La population étudiée se compose de 110 patients dont 52 sont de sexe masculin (47%) et 58 de sexe féminin (53%) avec un sexe-ratio de 1,12 ; comme présenté dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Distribution des patients selon le sexe et le groupe d'âge.

	NP	Sexe		Groupe d'âge			
		M	F	0-14 ans	15-24 ans	25-64 ans	65 et plus
Total	110	52	58	3	16	73	18

NP : Nombre de patients prélevés

3.1.2. Distribution des patients selon leur tranche d'âge

La tranche d'âge la plus touchée était celle entre 25 et 64 ans, représentée par 73 patients (Figure 3.1).

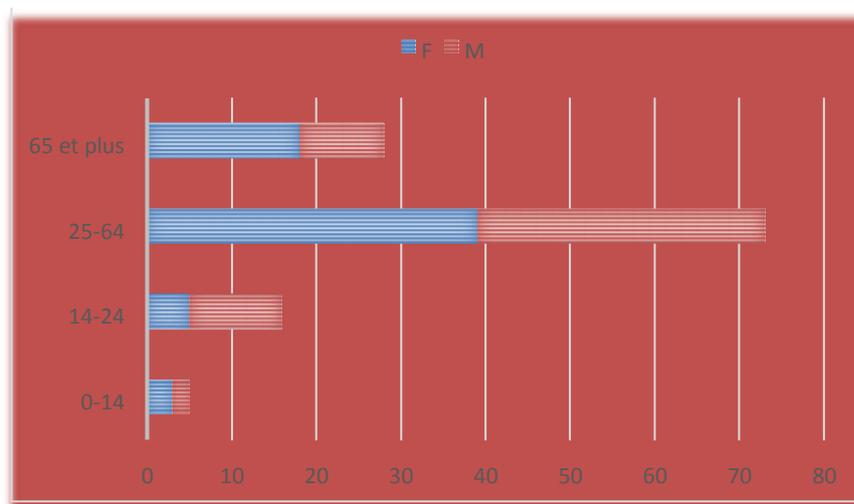


Figure 3.1 : Distribution des patients selon leur âge.

3.1.3. Antécédents pathologiques chez la population étudiée

Les antécédents pathologiques sont présents chez 82 patients (74%). Le détail de ces derniers est répertorié dans le tableau suivant :

Tableau 3.2 : Antécédents pathologiques chez la population étudiée.

Pathologie	HTA	Diabète	Cardiopathie	Goitre	Asthme	Hernie	Cancer	Allergie
NP	20	26	7	8	3	9	6	3
Pourcentage	18%	23%	6%	7%	2%	8%	5%	2%

NP : Nombre de patients prélevés

3.2. Identification de Staphylococcus aureus

L'étude bactériologique nous a permis d'isoler 92 souches identifiées comme des Cocci à Gram positif, immobiles, aéro-anaérobies facultatives présentant une catalase, une coagulase, une thermo-nucléase, une agglutination au latex et un biotypage par MALDI-TOF-MS. Ces caractéristiques ont permis de les attribuer à l'espèce *S. aureus* (Tableau 3.3).

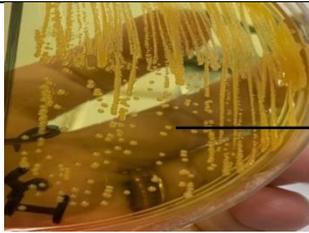
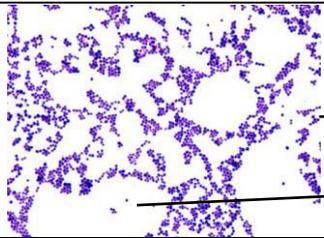
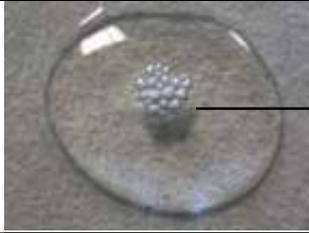
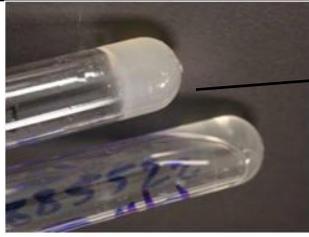
Parmi les 550 prélèvements réalisés, 488 (88%) se sont révélés positifs. Quant à la prévalence globale de *S. aureus*, elle était de 92 cas soit 19% des prélèvements positifs.

3.3. Fréquence des SARM

Dans le tableau ci-dessous, l'identification de la résistance à la méticilline par le disque de céfoxitine et la résistance inductible à la clindamycine (phénotype iMLSb) a permis de caractériser dix souches de *S. aureus* résistants à la méticilline, représentant ainsi un taux de SARM de 11%.

La démonstration des phénotypes iMLSB résulte du test D, où la résistance inductible à la clindamycine est évaluée. Ce phénotype est déterminé par l'observation des zones d'inhibition autour des disques d'ATB dans le test de D-test (Tableau 3.4). La présence de la zone en forme de "D" indique un phénotype iMLSB, suggérant une résistance inductible à la clindamycine. Ce test est essentiel pour évaluer la sensibilité à la clindamycine dans les souches de *S. aureus* et guide la prise de décision dans le choix des ATB pour le traitement.

Tableau 3.3 : Résultats de l'identification des isolats de *S. aureus*.

Technique d'identification	Résultat
Sur gélose Chapman	 <p>Colonie pigmentée en jaune</p>
Sous microscope optique (Gr 10x100) après coloration de Gram	 <p>Cocci ronds, Gram + en amas (grappe de raisins)</p>
Catalase	 <p>Catalase +</p>
Coagulase	 <p>Coagulase +</p>

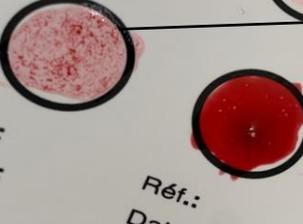
Dnase (Mise en évidence de la thermonucléase)	 <p>Apparition d'un halo clair Dnase +</p>								
Agglutination au latex (Staph plus par Pastorex®)	 <p>Formation d'agrégats</p>								
Biotypage par MALDI-TOF-MS	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="683 766 810 869">Nom de l'échantillon</th> <th data-bbox="810 766 986 869">ID de l'échantillon</th> <th data-bbox="986 766 1337 869">Organisme (meilleur candidat)</th> <th data-bbox="1337 766 1423 869">Score Valeur</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="683 869 810 958">A7 (+++) (A)</td> <td data-bbox="810 869 986 958">A7 (standard)</td> <td data-bbox="986 869 1337 958">Staphylococcus aureus</td> <td data-bbox="1337 869 1423 958">2.13</td> </tr> </tbody> </table>	Nom de l'échantillon	ID de l'échantillon	Organisme (meilleur candidat)	Score Valeur	A7 (+++) (A)	A7 (standard)	Staphylococcus aureus	2.13
Nom de l'échantillon	ID de l'échantillon	Organisme (meilleur candidat)	Score Valeur						
A7 (+++) (A)	A7 (standard)	Staphylococcus aureus	2.13						

Tableau 3.4 : Démonstration des phénotypes iMLSB résultants du test D.

Identification de SARM par disque de céfoxitine	 <p>Résistance à la céfoxitine</p>
Test D (iMLSB +)	 <p>d'inhibition en forme de D</p>

Au final, parmi les 550 prélèvements faits 92 souches de *S. aureus* dont 10 SARM ont été isolés (Figure 3.2).

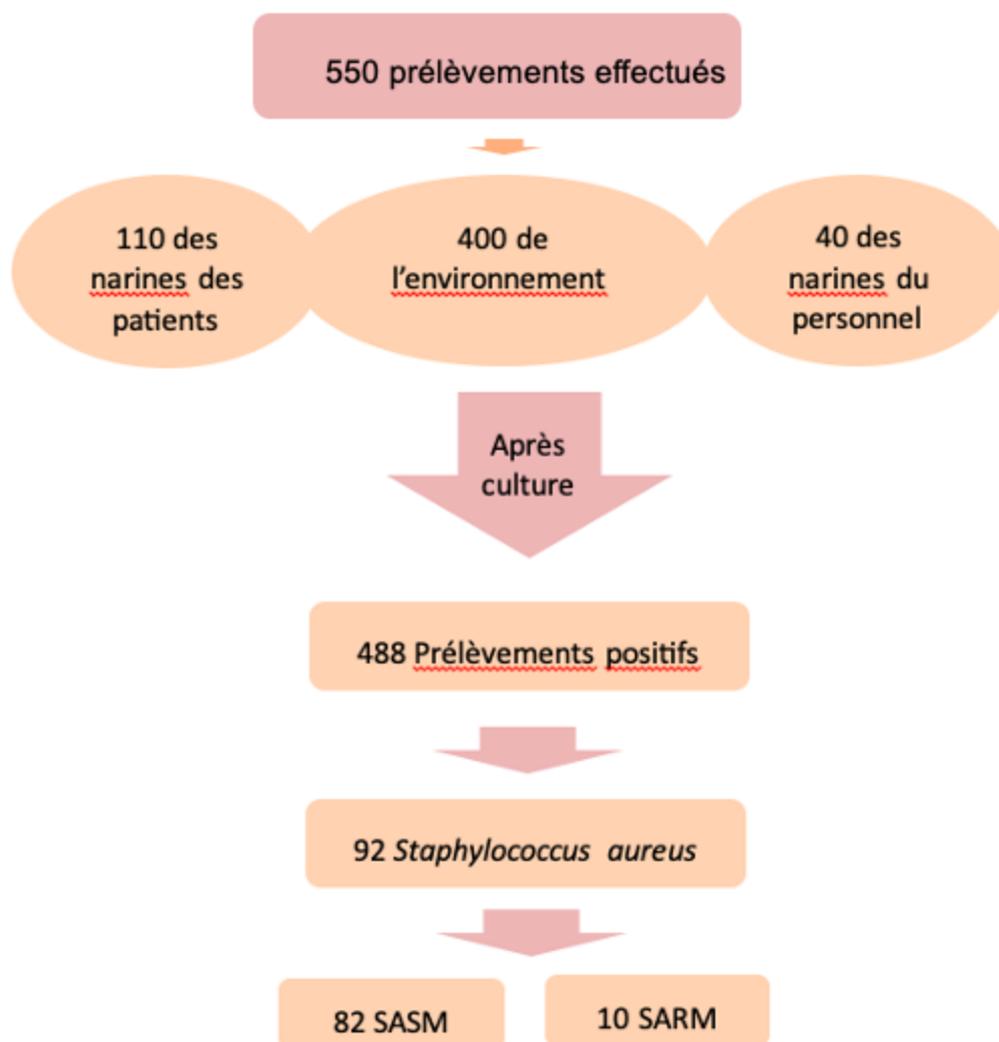


Figure 3.2 : Résultats de l'identification des SARM.

3.4. Portage de Staphylococcus aureus dans les fosses nasales

3.4.1. Chez les patients

a. Distribution de *S. aureus*

S. aureus a été identifié dans les narines de 29 patients parmi lesquels 3 étaient des SARM et les 26 restantes étaient des souches sensibles à la méticilline (SASM). Sur ces isolats, 18 souches ont été récupérées de patients admis dans le service de chirurgie générale, tandis que dans le service de

chirurgie orthopédique 11 souches ont été identifiées, comme indiqué dans le Tableau 3.5.

Toutes les souches SARM provenaient de patients admis dans le service de chirurgie générale.

b. Distribution de la colonisation nasale selon les antécédents pathologiques.

Parmi les 29 patients colonisés par *S. aureus*, 21 d'entre eux présentent des maladies sous-jacentes, comme indiqué dans le Tableau 3.6.

Tableau 3.6 : Types et distribution des antécédents médicaux chez les patients porteurs de *S. aureus*

Pathologie	NP	Pourcentage (%)
HTA	4	14
Diabète	5	17
Cancer	2	2
Allergie	1	3
Goitre	1	3
Hernie	1	3
Cardiopathie	3	10
HTA+ Diabète	3	10
Diabète+ Goitre	1	3

NP : Nombre de patients prélevés ; HTA : hypertension artérielle

Tableau 3.5 : Détails de la distribution des prélèvements des patients selon l'âge et le sexe des patients et selon le service dans lequel ils ont été hospitalisés et la présence de *S. aureus*, SASM et SARM.

Date	NP	Sexe		Age (ans)				Prélèvements par service		S. aureus		SASM		SARM	
		M	F	0-14	15-24	25-64	≥65	G	O	G	O	G	O	G	O
08.11.20	3	1	2	0	0	2	1	3	0	1	0	1	0	0	0
10.11.20	6	1	5	0	2	4	0	4	2	2	0	2	0	0	0
15.11.20	2	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
18.11.20	5	2	3	1	0	3	1	3	2	2	0	2	0	0	0
25.11.20	10	8	2	0	3	5	2	7	3	1	1	1	1	0	0
02.12.20	13	6	7	0	1	8	4	8	5	3	2	3	2	0	0
06.12.20	5	3	2	0	0	4	1	5	0	2	0	1	0	1	0
09.12.20	10	4	6	0	1	6	3	3	7	1	4	1	4	0	0
10.01.21	9	2	7	0	3	5	1	8	1	2	1	2	1	0	0
13.01.21	8	3	5	0	1	7	0	5	3	0	0	0	0	0	0
24.01.21	10	8	2	2	0	8	0	8	2	2	0	1	0	1	0
27.01.21	9	5	4	0	1	6	2	5	4	1	0	1	0	0	0
31.01.21	8	6	2	0	2	5	1	6	2	0	1	0	1	0	0
23.03.21	5	3	2	0	0	5	0	3	2	0	2	0	2	0	0
28.03.21	7	0	7	0	2	3	2	4	3	1	0	0	0	1	0
Total	110	52	58	3	16	73	18	74	36	18	11	15	11	3	0

NP : Nombre de patients prélevés ; M : Mâle ; F : Femelle ; G : service de chirurgie générale ; O : service de chirurgie orthopédique.

c. Distribution de la colonisation nasale selon la présence ou l'absence d'un antécédent d'hospitalisation

Comme indiqué sur la Figure 3.3, parmi les 16 patients dépistés et considérés comme porteurs de *S. aureus* sensible à la méticilline dans les cavités nasales et les 2 porteurs de SARM, ont tous séjourné à l'hôpital par le passé.

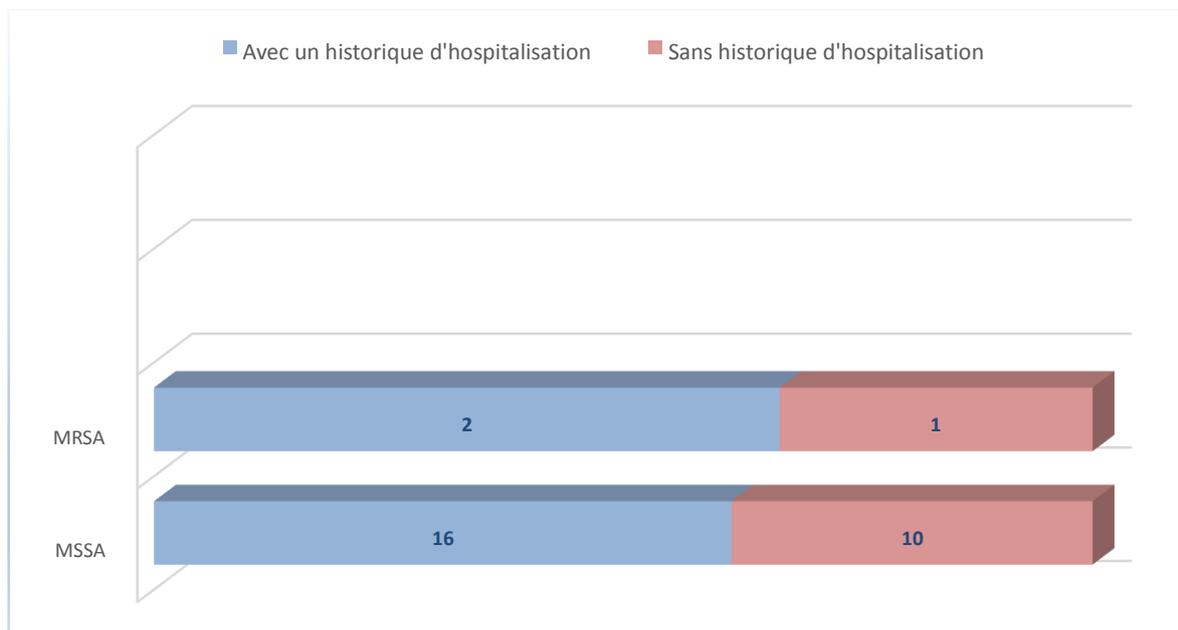


Figure 3.3 : Distribution de *S. aureus* selon les antécédents d'hospitalisation.

3.4.2. Chez le personnel médical

Comme le montre le Tableau 3.7, nous avons identifié *S. aureus* chez 12 individus du personnel de santé. Parmi eux, 10 ont été classifiés comme SASM tandis que les 2 autres étaient des souches SARM.

Notamment, l'un des cas de SARM a été isolé chez un médecin spécialiste en chirurgie générale, et le deuxième chez un infirmier.

Tableau 3.7 : Détails de la distribution des échantillons de travailleurs de la santé en fonction de leur rôle et de la présence de *S. aureus*, SASM et SARM.

Fonction	Date de prélèvement	Nombre de Prélèvements	<i>S. aureus</i>	SASM	SARM
Chirurgien général	14.03.21	7	3	2	1
Chirurgien orthopédique	14.03.21	5	0	0	0
Chef de bloc	14.03.21	1	1	1	0
Anesthésiste	14.03.21	3	1	1	0
Infirmiers	14.03.21	13	4	3	1
Aide-soignant	14.03.21	8	3	3	0
Coordinateur	14.03.21	1	0	0	0
Agent de ménage	14.03.21	2	0	0	0
Total		40	12	10	2

3.5. Prévalence de *S. aureus* dans l'environnement hospitalier (surfaces et matériel biomédical)

Les sites de prélèvements et les sites positifs au *S. aureus* sont détaillés dans le Tableau 3.8. Comme indiqué dans ce tableau, les surfaces des portes-sérums, les surfaces humides et les lits des patients présentaient les niveaux les plus élevés de contamination par *S. aureus*, avec des taux de positivité de 5 (40%), 8 (25%) et 6 (20%) respectivement. En ce qui concerne le matériel biomédical, une

contamination a été observée sur les respirateurs en réanimation (2 cas, soit 15%) et les sacs de drainage urinaires (2 cas, soit 10%).

En ce qui concerne les SARM, nous avons isolé 5 souches, avec une souche identifiée sur chaque type de surface : un lit de patient, un lavabo, un porte-sérum, un banc de salle d'attente, et un respirateur en unité de soins intensifs.

Tableau 3.8 : Détails de la distribution des échantillons environnementaux en fonction du site d'isolement et de la présence de *S. aureus*, SASM et SARM.

	Site d'isolement	Nombre de prélèvements	<i>S. aureus</i>	SASM	SARM
Surfaces	Surfaces humides	32	8	7	1
	Lits de patients	30	6	5	1
	Supports à sérum	20	5	4	1
	Chariots chirurgicaux	30	5	5	0
	Poignées de porte Bancs de salle d'attente	30	4	4	0
		42	4	3	1
	Sol USI	13	1	1	0
	Interrupteurs	20	1	1	0
	Couvercles de poubelle	30	1	1	0
	Plateau chirurgical				
	Ciseaux et pinces	10	6	6	0
	Bureau du médecin	13	1	1	0
	Tables chirurgicales	5	0	0	0
		11	0	0	0
Équipement biomédical	Respirateurs USI	13	2	1	1
	Laryngoscope	30	2	2	0
	Drains de Redon	30	2	2	0
	Collecteur d'urine	20	2	2	0
	Scope de bloc	16	1	1	0
	Scope USI	5	0	0	0
Total		400	51	46	5

USI : Unité des Soins Intensifs

3.6. Résistance aux ATB

3.6.1. Caractérisation phénotypique

La résistance bactérienne de *S. aureus* aux ATB a été répertoriée dans le tableau 3.9.

Tableau 3.9 : Résistance des isolats aux ATB testés.

Antibiotique	Environnement hospitalier	Patient	Personnel
Pénicilline	47	21	12
Acide fusidique	16	12	4
Ciprofloxacine	7	10	4
Érythromycine	11	5	4
Clindamycine	9	5	2
Oxacilline	7	3	4
Céfoxitine	5	3	2

Une illustration des profils phénotypiques de résistance est représentée en Multiexperiment Viewer dans la Figure 3.4.

La résistance la plus élevée exprimée par les isolats était vis-à-vis de la pénicilline avec 87% (n = 80), suivi par l'acide fusidique avec 35% (n = 32), la ciprofloxacine avec 23% (n = 21), l'érythromycine avec 22% (n = 20), la clindamycine avec 17% (n = 16), l'oxacilline avec 16,3% (n = 15) et la céfoxitine avec 10,8% (n = 10). De faibles niveaux de résistance (<11%) ont été enregistrés pour les autres ATB. Cependant, aucune résistance n'a été enregistrée pour la pristinamycine, la vancomycine, triméthoprim/sulfaméthoxazole

La résistance à la méticilline des 10 SARM a été déterminée par un disque de céfoxitine, tandis que la résistance inductible à la clindamycine par le D-test (un disque d'érythromycine et un autre de clindamycine), ces deux types de résistance ont été confirmés par la suite par la recherche des gènes qui leur sont associés.

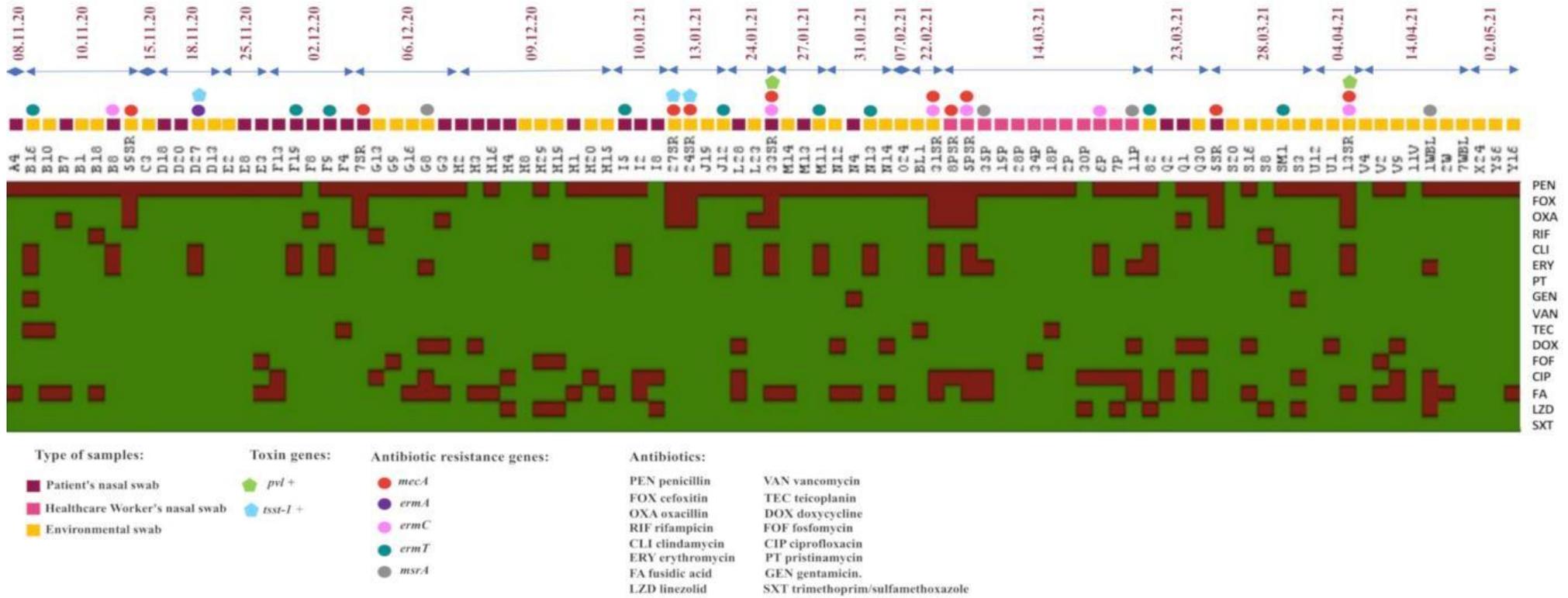


Figure 3.4 : Illustration des phénotypes et génotypes de résistance des bactéries isolées.

3.7. Caractérisation moléculaire de la résistance microbienne

3.7.1. Résultats des réactions PCR

a. Résistance à la méticilline

Le gène *mecA* abritant le caractère de résistance à la méticilline a été détecté chez toutes les souches ayant exprimé cette résistance phénotypiquement (évaluée par la résistance à la céfoxitine). Ainsi, ce gène a été détecté chez deux souches provenant du personnel soignant, cinq de l'environnement hospitalier et trois des patients. En revanche, le gène *mecC* n'a été identifié dans aucun des isolats, comme illustré dans les Figures 3.5 et 3.6.

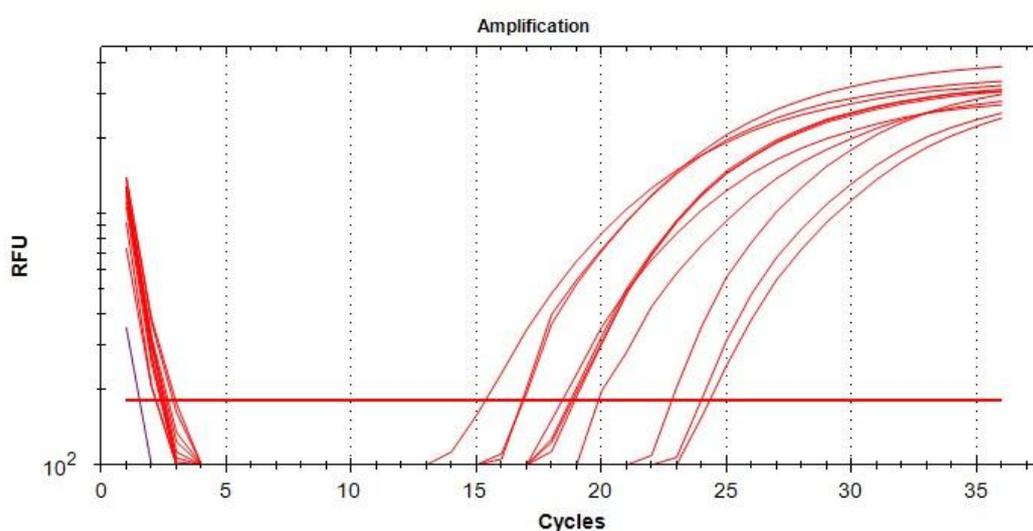


Figure 3.5 : Résultat de la PCR en temps réel pour la recherche du *mecA*.

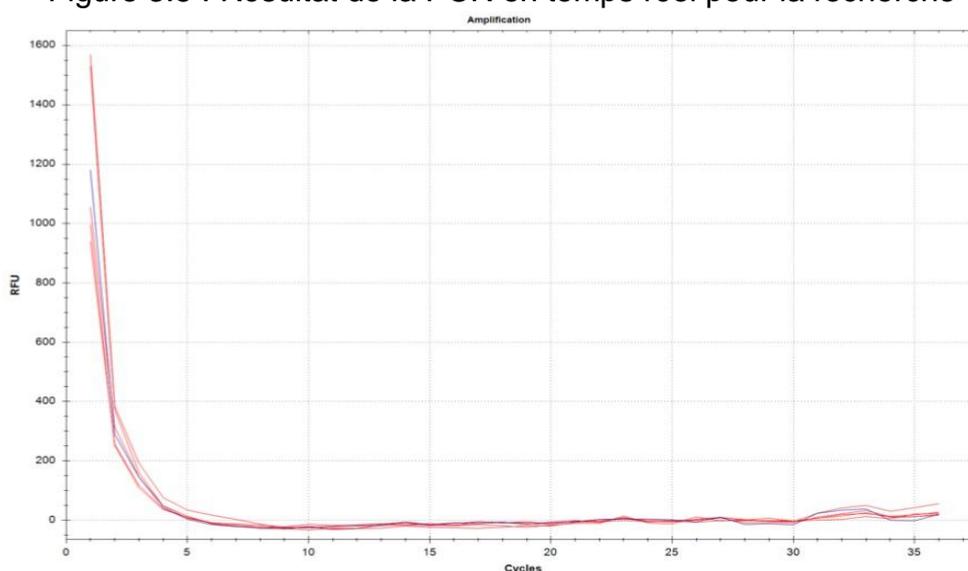


Figure 3.6 : Résultat de la PCR en temps réel pour la recherche du *mecC*.

b. Typage de la cassette chromosomique SCCmec

Les résultats de la RT-PCR ont révélé la présence de deux types de cassettes SCCmec. Le type IV était prédominant, avec une présence dans 8 des 10 cassettes. Ces cassettes de type IV ont été isolées 4 fois dans l'environnement hospitalier prélevé, 3 fois chez les patients et une fois chez le personnel soignant. En ce qui concerne le type V, il était présent dans les deux cassettes restantes, une fois dans l'environnement hospitalier et une fois chez le personnel médical (Figure 3.7 et 3.8).

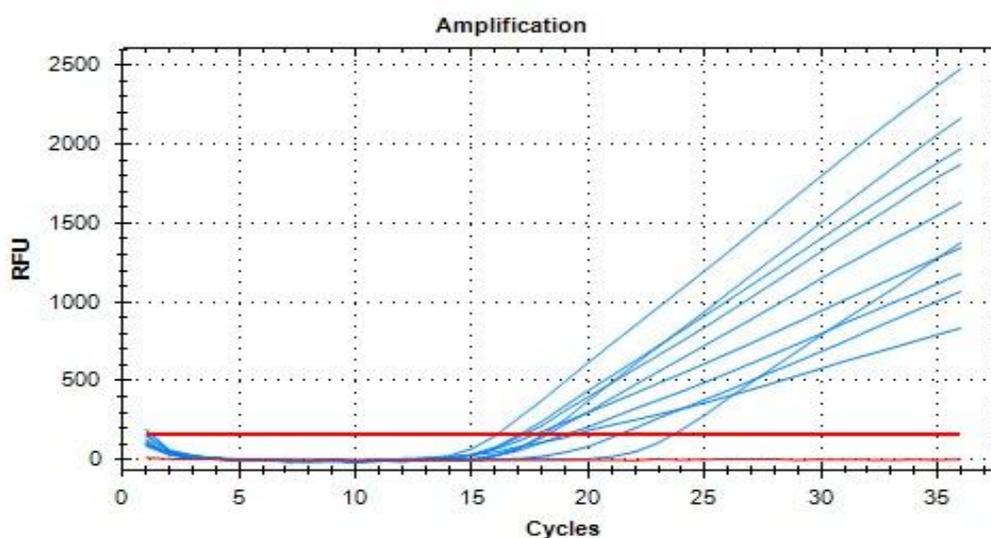


Figure 3.7 : Résultat de la PCR en temps réel pour la recherche du SCCmec IV.

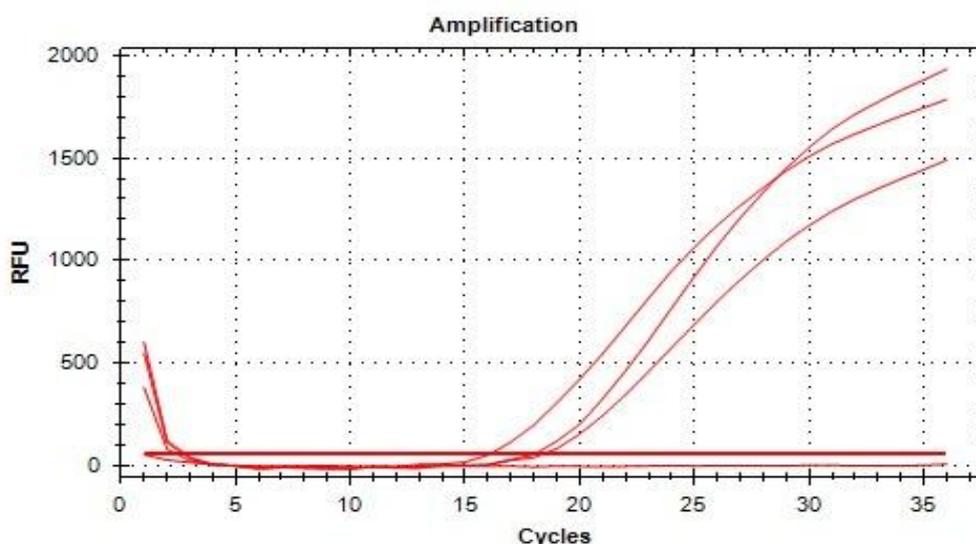


Figure 3.8 : Résultat de la PCR en temps réel pour la recherche du SCCmecV.

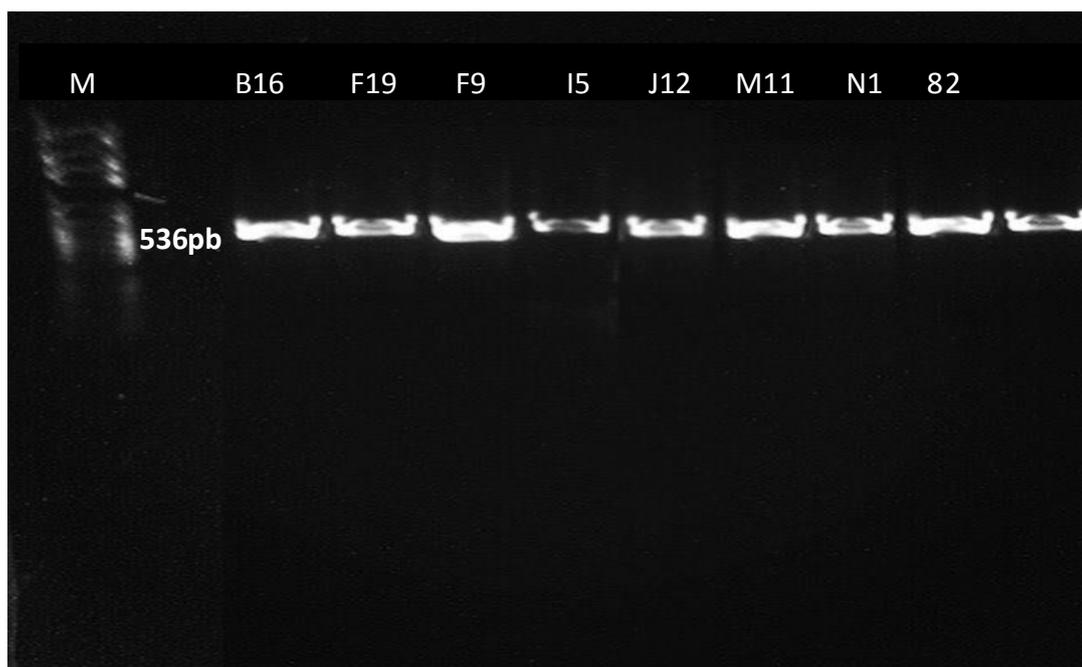
c. Résistance inductible à la clindamycine (iMLSB)

Nous avons recherché les gènes responsables du profil iMLSB chez les 16 isolats qui présentaient ce profil phénotypiquement. Le gène *ermT* était plus fréquent identifié dans 9 cas suivi de *ermC* (n = 6) et enfin *ermA* (n = 1). Le gène *ermB* était absent dans toutes les souches.

Dans l'environnement hospitalier prélevé, le gène prédominant exprimant cette résistance était *ermT*, identifié dans 6 souches, comme illustré dans la figure 3.9.

Ensuite, *ermC* était présent dans 2 souches (Figure 3.10), et *ermA* était détecté dans une seule souche (Figure 3.11).

Pour le personnel médical, seul le gène *ermC* a été identifié, et ce dans les deux souches concernées. Enfin, chez les patients, *ermT* était présent dans 3 cas et *ermC* dans 2 cas.



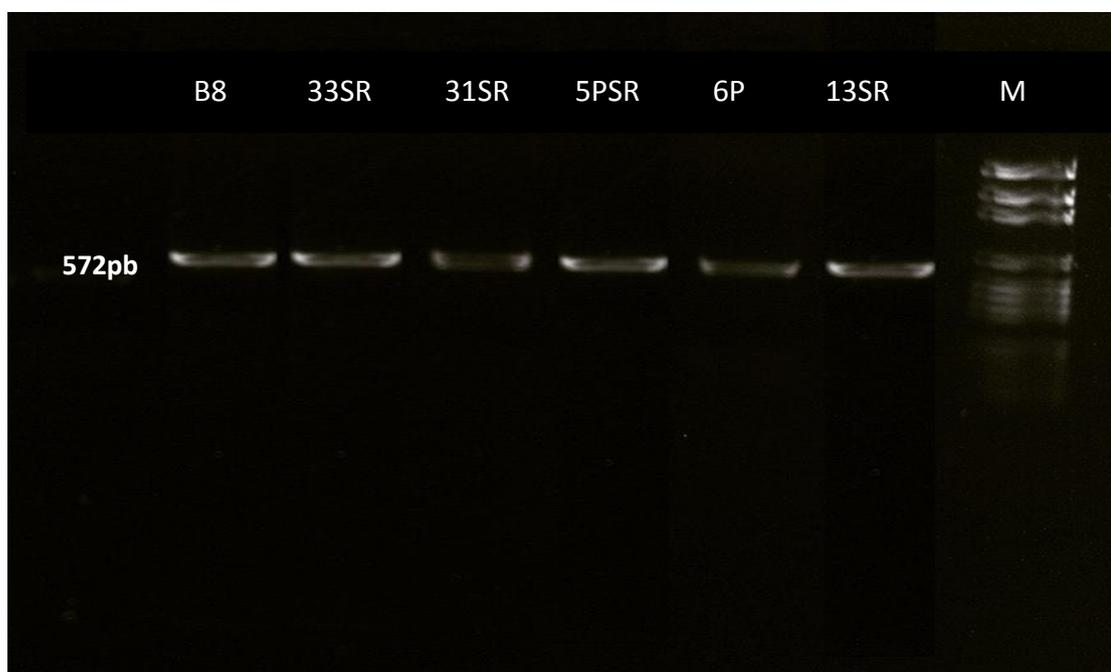
M : Marqueur de taille ; pb : Paire de bases ; B16, J12, M11, 82 : souches de source environnementale ; F19, F9, I5, N1 : souches de source nasale.

Figure 3.9 : Résultat de la PCR standard pour la recherche du *ermT*.



M : Marqueur de taille ; pb : Paire de bases ; D27 : souche de source environnementale.

Figure 3.10 : Résultat de la PCR standard pour la recherche du *ermA*.

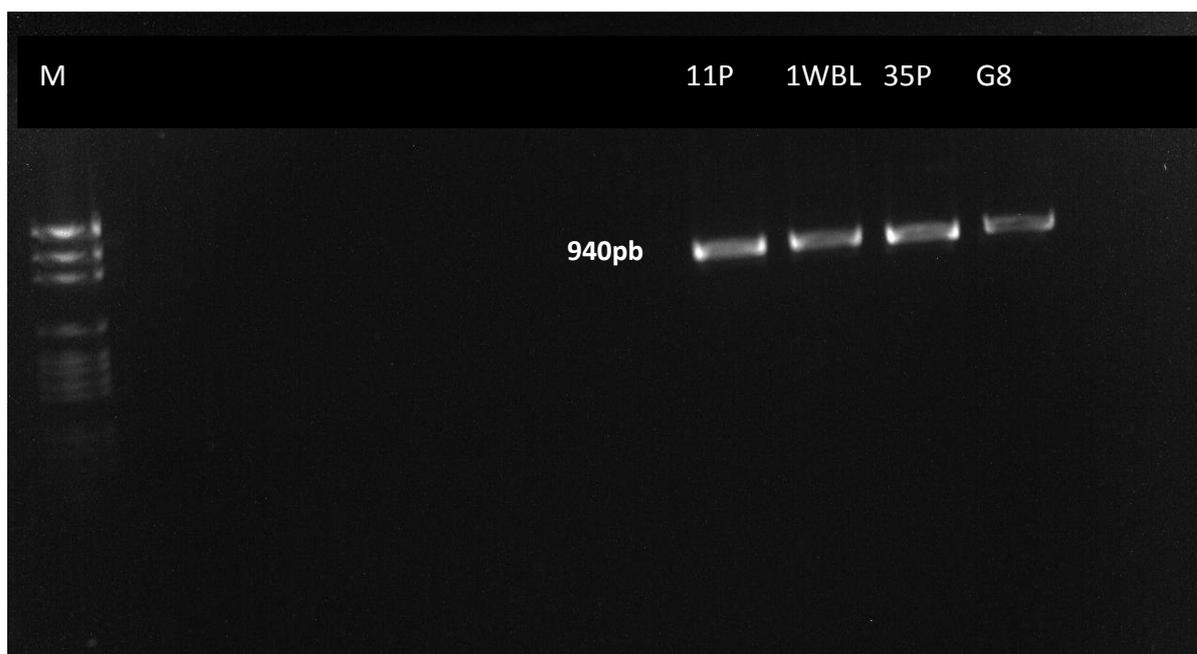


M : Marqueur de taille ; pb : Paire de bases ; 33SR, B8, 5PSR, 6P : souches de source nasale ;
31SR, 13SR : souche de source environnementale.

Figure 3.11 : Résultat de la PCR standard pour la recherche du *ermC*.

d. Identification gène staphylococcal *msrA*

Le gène *msr(A)* qui code pour une protéine d'efflux macrolide a été identifié dans 4 isolats (Figure 12). Deux de ces isolats provenaient du personnel soignant, tandis que les deux autres provenaient, respectivement, de l'environnement hospitalier prélevé et d'un patient.



M : Marqueur de taille ; pb : Paire de bases ; 11P, 35P : souches de source nasale ; 1WBL, G8 : souches de source environnementale.

Figure 3.12 : Résultat de la PCR standard pour la recherche du *msrA*.

3.7.2. Résultat du séquençage du génome entier (WGS)

a. Sous-typage de la cassette SCCmec

Pour cette caractérisation, nous avons opté pour l'analyse des produits issus du WGS. Nous avons utilisé le service SCCmecFinder du site internet du Center for Genomic Epidemiology pour sous-types de nos cassettes, préalablement typées par PCR. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 3.10.

b. Recherche des gènes de résistance

Nous avons entrepris la recherche des différents gènes de résistance antimicrobienne présents chez les souches ayant fait l'objet d'un WGS. Les résultats ont été donnés sous forme de tableau (Voir annexe F, Tableau S5). L'objectif était de

confirmer les gènes précédemment identifiés par RT-PCR ou PCR standard et de détecter d'autres gènes qui n'avaient pas été recherchés auparavant. Les gènes identifiés sont répertoriés dans le Tableau 3.11.

Tableau 3.10 : Sous typage des cassettes SCCmec.

ID souche	Rendu sur la base de données	Sous type
5SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
13SR	subtype-IVc(2B):3:81108:AB096217	IVc
24SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
27SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
33SR	subtype-IVc(2B):3:81108:AB096217	IVc
59SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
7SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
8PSR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
5PSR	SCCmec_type_V(5C2&5) SCCmec_type_Vc(5C2&5) gblAB505629.1	Vc
31SR	SCCmec_type_V(5C2&5) SCCmec_type_Vc(5C2&5) gblAB505629.1	Vc
5SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
13SR	subtype-IVc(2B):3:81108:AB096217	IVc
24SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
27SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
33SR	subtype-IVc(2B):3:81108:AB096217	IVc
59SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
7SR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
8PSR	subtype-IVa(2B):1:CA05:AB063172	IVa
5PSR	SCCmec_type_V(5C2&5) SCCmec_type_Vc(5C2&5) gblAB505629.1	Vc

Tableau 3.11 : Présence et distribution des gènes de résistance identifiés par WGS.

ID-Souche	Gènes producteurs
31SR	<i>mecA; erm(C); dfrG; blaZ; fusC</i>
27SR	<i>mecA ; blaZ</i>
59SR	<i>blaZ; mecA</i>
13SR	<i>mecA; blaZ; aph (3'); ant (6); tet(K); fusB; erm(C)</i>
24SR	<i>blaZ ; mecA</i>
12J	<i>erm(T) ; blaZ</i>
13N	<i>erm(T) ; blaZ</i>
27D	<i>blaZ; ant (9); erm(A)</i>
SM1	<i>erm(T) ; blaZ</i>
82	<i>erm(T) ; blaZ</i>
16B	<i>erm(T) ;blaZ</i>
11M	<i>erm(T); blaZ</i>
8PSR	<i>blaZ; mecA; vga(A); tet(M)</i>
5PSR	<i>fusc; mecA; erm(C); dfrG; blaZ</i>
6P	<i>blaZ ;erm(C)</i>
33SR	<i>mecA;blaZ; aph(3');ant(6); tet(K); fusB; erm(C)</i>
7SR	<i>mecA ; blaZ</i>
5SR	<i>blaZ ; mecA</i>
5I	<i>erm(T) ;blaZ</i>
8B	<i>blaZ ;erm(C)</i>
9f	<i>erm(T) ;blaZ</i>
19F	<i>erm(T) ;blaZ</i>

Erm: Erythromycine; Lincomycine; Clindamycine; Quinupristine; Pristinamycine_IA; Virginiamycine; **mecA:** Amoxicilline; Amoxicilline+Clavulanic_acid; Ampicilline; Ampicilline+Clavulanic_acid; Cefepime; Cefixime; Cefotaxime; Cefoxitin; Ceftazidime;Ertapenem;Imipenem; Meropenem;Piperacillin;Piperacillin+Tazobactam; **dfrG** :Triméthoprim; **blaZ** : Amoxicilline;Ampicilline;Pénicilline;Pipéracilline ; **fusC** :Acide fusidique, **aph (3')**: Amikacine ; **ant (6)** : Streptomycine ; **tet (M)** : Doxycycline;Tétracycline ; **vga(A)** :Lincomycine;Dalfopristine;Pristinamycine_IIA;Virginiamycine_M;Tiamulin.

c. Typage de séquences Multilocus (ST) et de protéine A staphylococcique (spa)

Le WGS nous a permis l'identification de 8 catégories de spa connues (t311 ; t3243 ; t12236 ; t346 ; t571 ; t042 ; t044 ; t899) et une catégorie inconnue. Ces souches ont été réparties dans sept séquences types (ST) différentes, principalement ST398 (n = 9), suivi de ST6 (n = 4), ST5, ST22, ST80, ST15 (n = 2) et ST30 (n = 1).

Concernant les isolats SARM, ils ont été répartis comme suit : SARM-IV-ST6 (n = 3), SARM-IV-ST80-PVL+ (n = 2), SARM-IV-ST22-TSST-1+ (n = 2), SARM-VST5 (n = 2) et SARM-IV-ST398 (n = 1). Ces observations ont été faites dans l'environnement hospitalier, ainsi que chez certains porteurs sains et patients.

3.8. Facteurs de virulence

3.8.1. Résultats des réactions RT-PCR

a. Leucocidine de Panton et Valentine

Les gènes codant pour la toxine PVL ont été identifiés dans 7 isolats, dont 2 étaient des SARM. Parmi eux, quatre (04) provenaient du portage nasal (comprenant trois isolats de patients et un seul isolat du personnel soignant), tandis que les trois autres étaient issus de l'environnement hospitalier étudié (Figure 3.13 et 3.14).

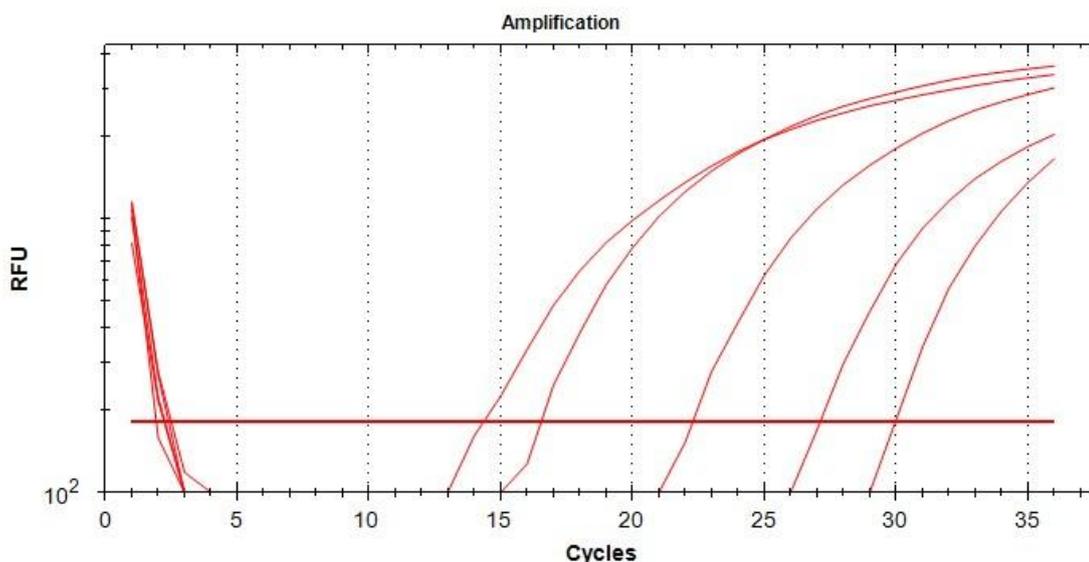


Figure 3.13 : Résultat de la RT-PCR 01 pour la recherche du *pvl*.

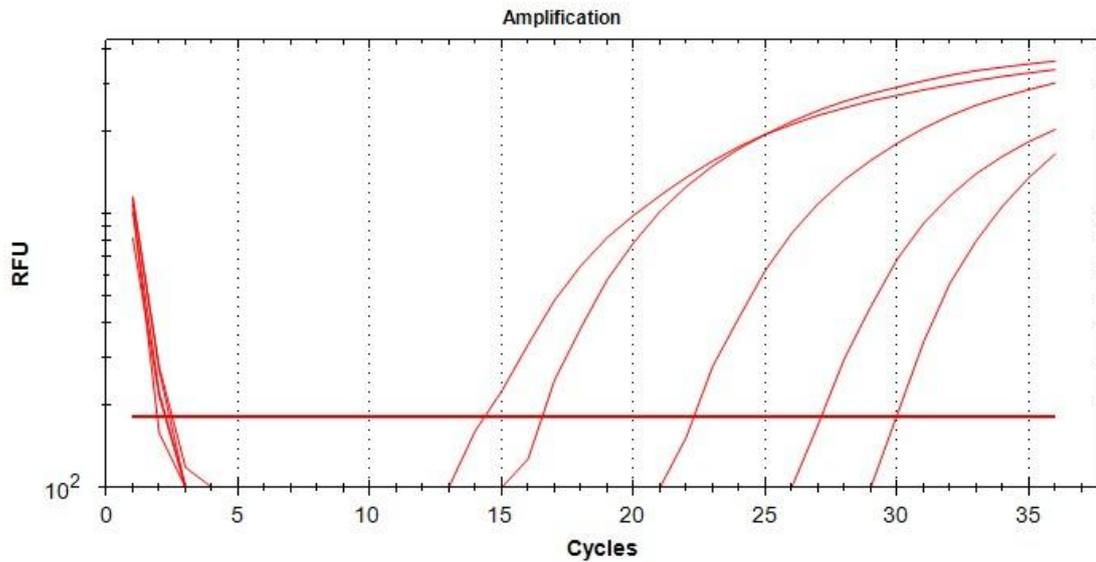


Figure 3.14 : Résultat de la RT-PCR 02 pour la recherche du *pvl*.

b. Toxine du Syndrome de choc toxique

Le gène codant pour la TSST-1 a été identifié dans 17 souches de *S. aureus*, dont 2 étaient des SARM. Ce gène a été retrouvé 9 fois dans l'environnement hospitalier analysé, 5 fois chez les patients et 3 fois chez le personnel soignant (Figure 3.15 et 3.16).

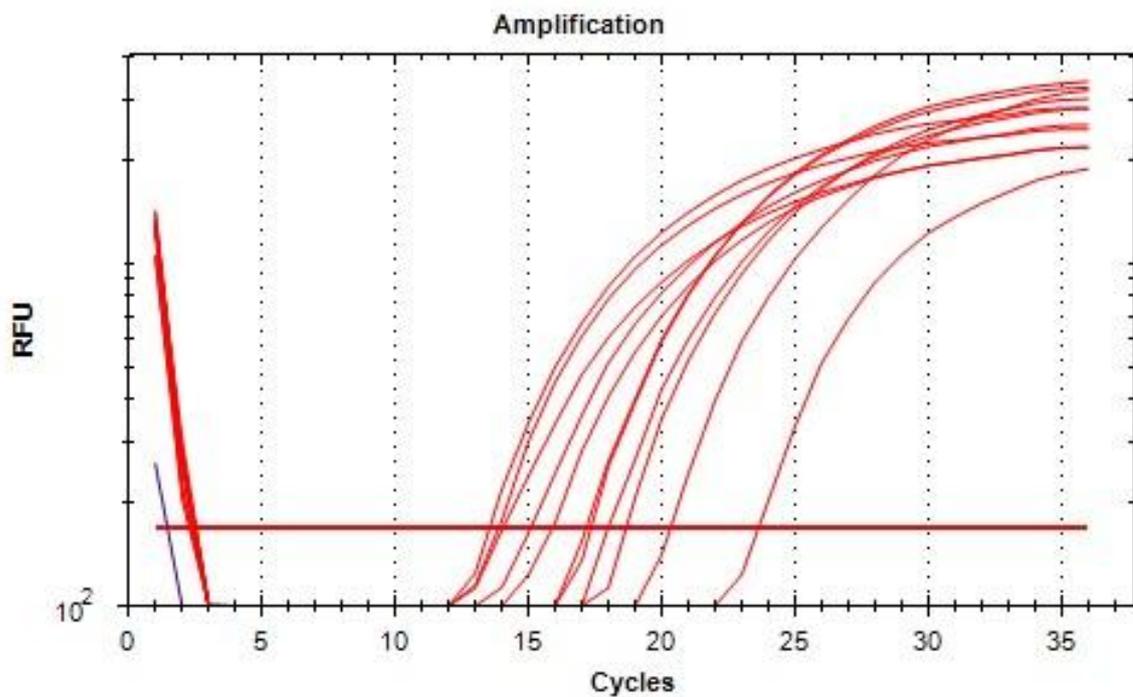


Figure 3.15 : Résultat de la RT-PCR 01 pour la recherche du *tsst-1*.

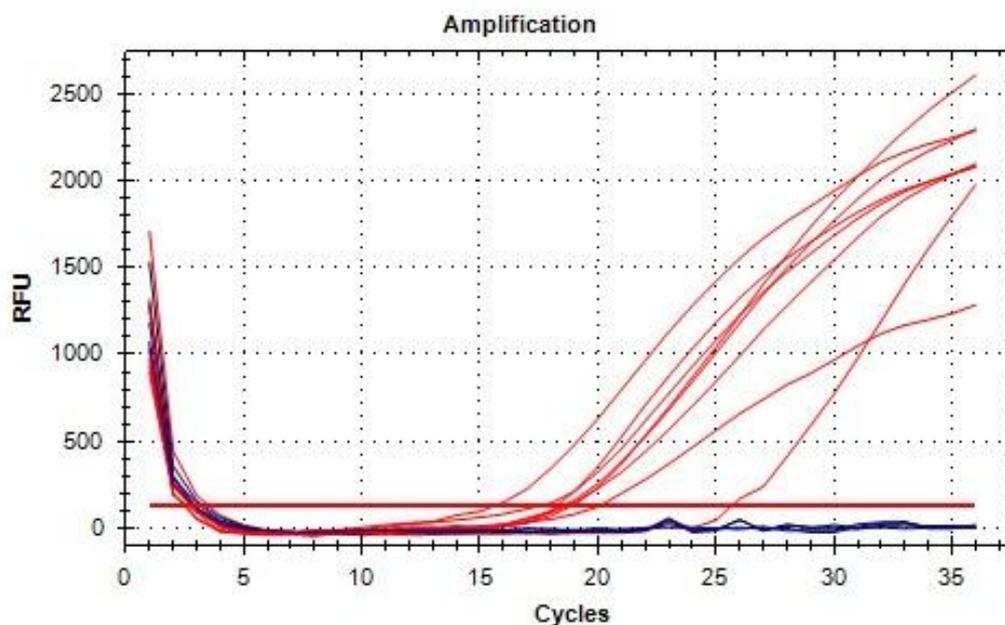


Figure 3.16 : Résultat de la RT-PCR 02 pour la recherche du *tsst-1*.

3.9. Résultat du séquençage du génome entier

Pour chaque souche séquencée nous avons obtenu un tableau récapitulatif des gènes de virulence (Voir annexe G, Tableau S6). Le Tableau 3.12 résume les plus importants gènes de virulence décrits dans la littérature que nous avons identifiés chez les souches séquencées.

3.10. Dendrogramme des isolats de Staphylococcus aureus

Nous avons réalisé un biotypage des souches identifiées à l'aide du logiciel Biotyper, nous permettant de comparer les spectres des profils protéiques et les scores des bactéries en les regroupant en clusters. Le dendrogramme des isolats est illustré dans la Figure 3.17. Nous avons observé la présence de deux groupes de clusters.

Tableau 3.12 : Distribution des principaux gènes de virulence sur les 22 souches séquencées [196].

Genes	Environment Origin (n = 12)		Patient Origin (n = 7)		Health Worker Origin (n = 3)	
	MSSA (n = 7)	MRSA (n = 5)	MSSA (n = 4)	MRSA (n = 3)	MSSA (n = 1)	MRSA (n = 2)
Toxins						
<i>sea</i>	2 (29%)	1 (20%)	0 (0%)	2 (66%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>seb</i>	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)
<i>seh</i>	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	1 (33%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>tst</i>	1 (14%)	2 (40%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>lukf-pv</i>	0 (0%)	3 (60%)	1 (25%)	3 (100%)	1 (100%)	1 (50%)
<i>luks-pv</i>	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	1 (33%)	0 (0%)	0 (0%)
Haemolysins						
<i>hla</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>hlb</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>hld</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>hlgA</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>hlgB</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>hlgC</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
MSCRAMMs (Adhesins)						
<i>cna</i>	2 (29%)	4 (80%)	0 (0%)	2 (66%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>ebp</i>	3 (43%)	3 (60%)	1 (25%)	3 (100%)	1 (100%)	1 (50%)
<i>clfA</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	2 (66%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>clfB</i>	7 (100%)	5 (100%)	2 (50%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>fnbA</i>	5 (71%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>fnbB</i>	5 (71%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
Capsule components						
<i>cap8</i>	1 (14%)	3 (60%)	1 (25%)	3 (100%)	1 (100%)	0 (0%)
<i>icaA</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>icaB</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>icaC</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>icaD</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>icaR</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
Other factors						
<i>scn</i>	7 (100%)	5 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
<i>chp</i>	5 (71%)	2 (40%)	4 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (50%)
<i>sak</i>	1 (14%)	5 (100%)	0 (0%)	3 (100%)	0 (0%)	2 (100%)

MSCRAMMs : Microbial Surface Components Recognising Adhesive Matrix Molecule.

3.11. Pangénome des souches séquencées

Le pangénome présenté dans la Figure 3.18 met en évidence la parenté entre les souches de l'environnement hospitalier, celles de certains patients, et celles du personnel soignant, malgré le fait qu'elles aient été collectées à des mois d'intervalle. Ce pangénome inclut également la représentation de certains gènes de virulence, ainsi que des gènes de résistance et les types de cassette SCCmec.

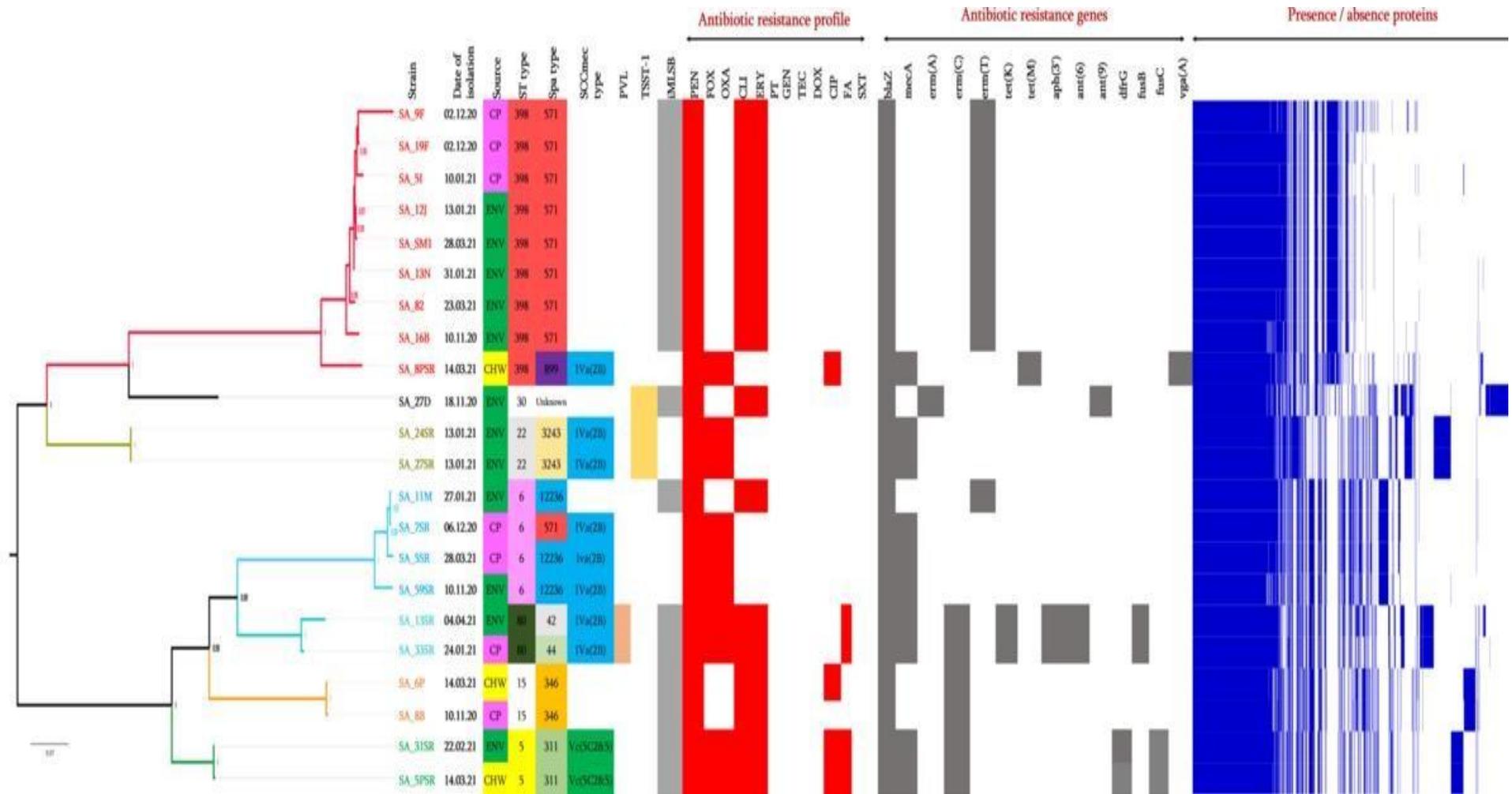


Figure 3.18 : Analyse du pangéome des 22 isolats de *S. aureus* séquencés, leur date d'isolement, la présence de PVL et de TSST, leur profil de résistance aux ATB et leurs caractéristiques génétiques.

3.12. Autres paramètres identifiés par le WGS

3.12.1. Taille des génomes

Les 22 génomes de *S. aureus* ont une taille comprise entre 2740047 paires de bases et 2849502 paires de base comme le montre la Figure 3.19. Les autres caractéristiques incluant le nombre des contigs, leurs largeurs etc. sont représentées dans le Tableau S7 (voir annexe H).

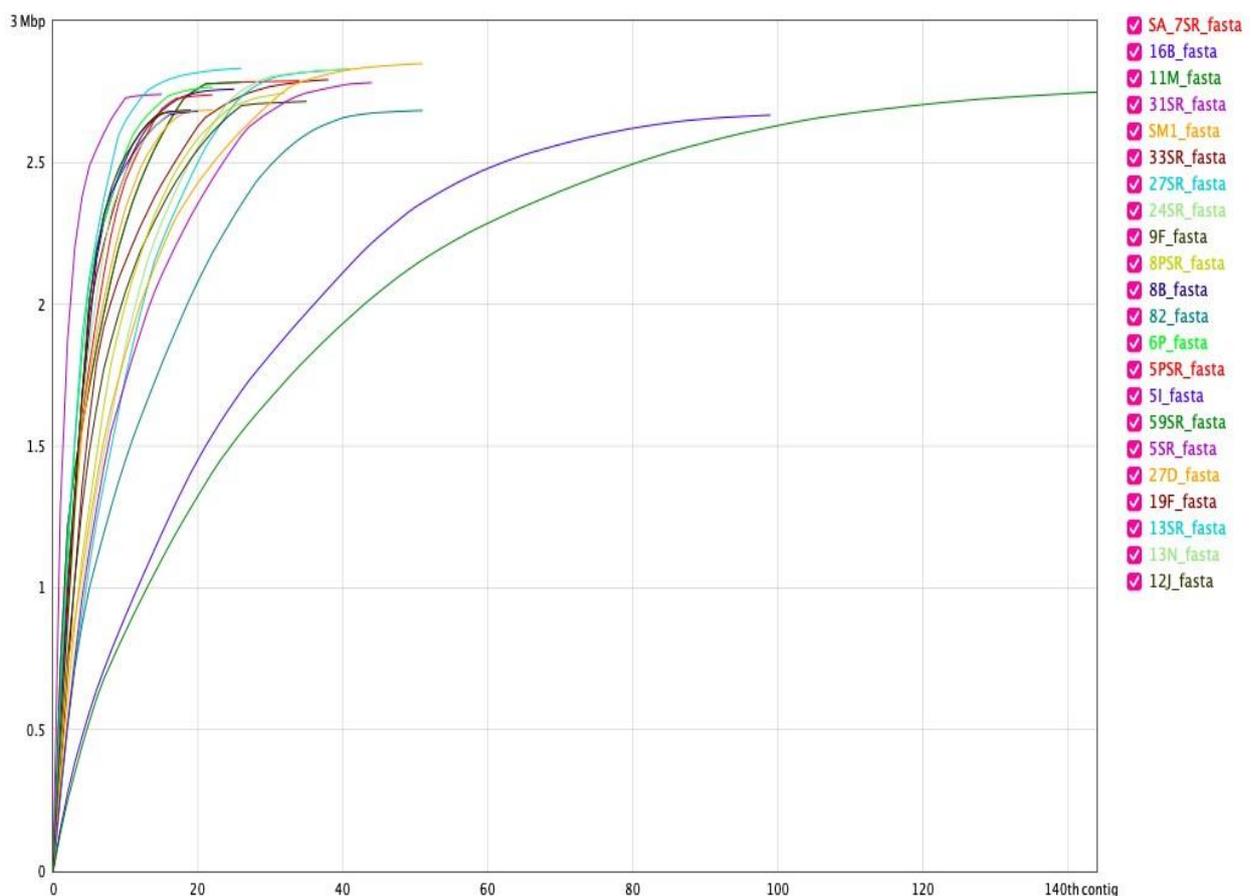


Figure 3.19 : Taille des génomes de *S. aureus* séquencés.

3.12.2. Coefficient de Chargaff

Le taux de GC des souches séquencées était de 32% pour toutes ces dernières comme indiqué dans la Figure 3.20.

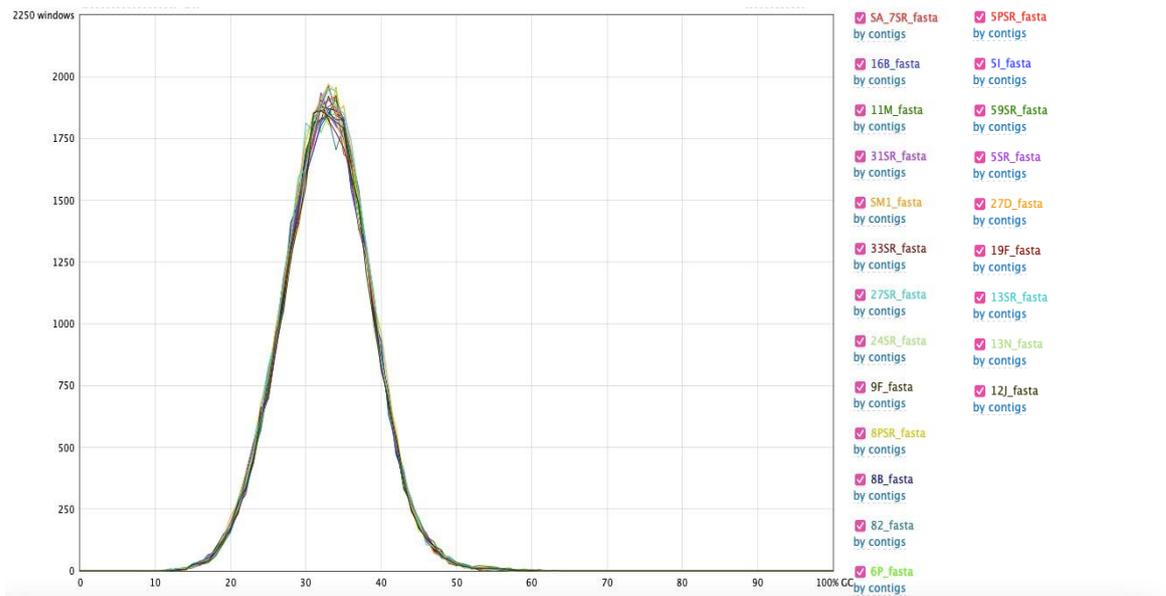


Figure 3.20 : Pourcentage de GC des souches séquencées.

Les génomes issus de nos séquençages des 22 souches ont été déposés dans GenBank en tant que génomes complets. Ils sont ouvertement disponibles dans NCBI dans le Bioproject PRJNA836883 ; sous les numéros d'accension : SAMN28177538; SAMN28177539; SAMN28177540 ; SAMN28177541 ; SAMN28177542 ; SAMN28177543 ; SAMN28177544 ; SAMN28177545 ; SAMN28177546 ; SAMN28177547 ; SAMN28177548 ; SAMN28177549 ; SAMN28177550 ; SAMN28177551 ; SAMN28177552 ; SAMN28177553 ; SAMN28177554 ; SAMN28177555 ; SAMN28177556 ; SAMN28177557 ; SAMN28177558 ; SAMN28177559.

CHAPITRE 4

DISCUSSION

Figurant à la fois parmi les pathogènes et les bactéries commensales, *S. aureus* se classe parmi les premiers agents pathogènes décrits. Environ 30% de la population en bonne santé est colonisée par ce germe. Cette bactérie possède une bonne adaptation à l'environnement médical, à l'humain et même à l'animal [1], [197].

Sa présence représente un enjeu majeur tant pour les établissements de soin que pour les communautés. Elle est une cause majeure d'infections cliniques susceptibles de déclencher des complications graves telles que les bactériémies, les endocardites, les pneumonies, les infections cutanées et des tissus mous, ainsi que des infections ostéoarticulaires [198]. Parmi les spécificités de ce germe, sa grande capacité à développer une résistance vis-à-vis des ATB notamment la méticilline (SARM). Cette résistance s'est répandue rapidement au sein des établissements de soins après l'introduction de cet ATB dans le cadre des traitements médicaux [199].

Afin d'évaluer les risques potentiels associés à *S. aureus* et ses impacts sur la santé humaine, il est essentiel d'analyser sa circulation au sein des établissements de soins et de comprendre les voies de transmission qu'il emprunte. Cette étude devrait se concentrer sur les réservoirs, les origines, les propriétés et les CC de ce microorganisme. Il est crucial d'étudier les réservoirs, les origines, les propriétés et les CC de ce microorganisme.

Au cours de cette étude, nous présentons une évaluation de la prévalence, de la résistance et de la sensibilité aux ATB, de la virulence, ainsi que de la diversité clonale de SARM et de SASM. Ces évaluations ont été effectuées en analysant les échantillons prélevés à partir des surfaces environnementales dans un milieu hospitalier, des équipements biomédicaux, des patients et du personnel de santé. L'étude s'est concentrée sur les services de Chirurgie Générale, de Chirurgie Orthopédique, ainsi que sur le service des Soins Intensifs (réanimation) d'un hôpital localisé dans la wilaya d'Oran à l'Ouest de l'Algérie.

Le niveau de contamination de l'environnement hospitalier comprenant les surfaces tactiles, les surfaces inertes et les équipements biomédicaux par *S. aureus*

que nous avons enregistré était de 51 (13%). Parmi ces échantillons, les SARM ont été isolés dans 5 (soit 1,25%) des échantillons totaux prélevés. En comparant ces résultats avec des études publiées dans la littérature, ce taux se rapproche de ceux rapportés en Tunisie (2%), au Brésil (1,7%) et en Arménie (1,66%) et supérieur à celui d'une étude marocaine et une autre brésilienne ayant identifié un pourcentage de *S. aureus* de 9% et de 7% respectivement [13], [200], [201].

Les résultats obtenus dans notre étude indiquent que les trois services examinés sont colonisés par *S. aureus*. Cette observation est conforme à de nombreuses études démontrant que les surfaces cliniques et les dispositifs médicaux dans les services médicaux à proximité des patients jouent un rôle crucial dans le maintien de l'endémie de *S. aureus*, en particulier pendant les épidémies de SARM comme déjà mentionné dans les travaux de Javidnia et al., (2013) [202].

Dans le même contexte de contamination environnementale, la littérature suggère que *S. aureus* peut persister sur des surfaces inanimées pendant une période allant de sept jours à sept mois [148]. Ces constatations corroborent les résultats du pangénome que nous avons réalisé, où les souches que nous avons séquencées ont démontré un regroupement significatif, formant plusieurs clusters de bactéries isolées à des intervalles de plusieurs mois. Cela suggère une persistance de ces souches au fil du temps au sein de l'hôpital.

La prévalence du portage nasal préopératoire de *S. aureus* chez les patients dépistés lors de notre étude était de 27 % (29 patients colonisés). Des taux variables ont été rapportés par des chercheurs dans différentes régions de l'Algérie. Au centre de l'Algérie, l'équipe de Djoudi et al., (2015) [4] a rapporté un taux similaire estimé à 26%, tandis qu'à l'Ouest, Ghernaout (2013) [144] a rapporté un taux plus faible de 18,3%. Dans d'autres régions du monde, des pourcentages de portage nasal préopératoire de *S. aureus* ont été rapportés, montrant une variabilité significative. Par exemple, aux Pays-Bas, un taux de 18,8% a été enregistré, en Espagne 27%, en Australie 28%, aux États-Unis 38%, au Sénégal 36% et au Gabon 29% [203], [204], [205], [206], [207].

2,7 % de nos patients étaient porteurs de SARM dans la cavité nasale. Ce taux se rapproche de ceux retrouvés dans des études menées en Algérie lesquelles ont rapporté des taux faibles de SARM de 1,5% et 1,4%, respectivement [144], [4]. À l'inverse de Ouidri (2018) [19] ayant rapporté un pourcentage plus élevé (5,43%) dans le même pays.

Une étude brésilienne a rapporté un taux nettement plus élevé 20,4%. Par contre, une étude australienne a enregistré un taux plus faible de 0,7% de SARM [205], [200].

Dans cette étude, le taux de la colonisation nasale par *S. aureus* chez les professionnels de la santé était de 12 (30%). Dans une recherche anglaise et une autre iranienne, 37% et 38,5% des travailleurs médicaux ont été décrits comme porteurs de SARM, ce qui se rapproche des résultats trouvés dans cette étude [208], [209]. Par contre, des taux plus faibles (24,8%) ont été retrouvés par Zemour et al., (2013) [210] dans la même région de notre étude (Ouest algérien), en République Démocratique du Congo (16,6 %), en Chine (11%) ou encore en Arménie (21,3%) et d'autres nettement plus élevés, comme c'est le cas pour la Syrie (48%) [211], [212], [213], [214]. Ces similitudes soulignent la prévalence élevée de portage de SARM parmi le personnel médical et mettent en évidence l'importance de la surveillance et du contrôle des infections dans les milieux de soins de santé.

Cependant, le staff hospitalier a présenté une prévalence de SARM de 2 (5%), ce qui est cohérent avec des enquêtes menées en Chine, en Angleterre, en Arménie et en Turquie oscillant entre 4 et 6 %. Une méta-analyse réalisée aux États-Unis ayant traité plusieurs études, qui a fait état d'un pourcentage de 6,6 % [208], [211], [213], [215], [216].

Dans notre étude, *S. aureus* a principalement été identifié chez des hommes. Cette observation corrobore plusieurs études avec des échantillons plus étendus, lesquelles ont démontré que le sexe masculin constituait un facteur de risque pour le portage de *S. aureus* [32], [217], [218].

Les antécédents médicaux ont également été identifiés comme des facteurs contribuant au portage nasal de *S. aureus*, ce qui est en cohérence avec nos résultats où 21 des porteurs présentaient au moins un antécédent médical [219], [220].

Le dépistage systématique des patients actuels et des zones à haut risque pour les bactéries multirésistantes, ainsi que l'isolement des patients ayant un historique de colonisation ou d'infections lors d'une admission ultérieure, font partie des stratégies qui peuvent contribuer à la réduction de la transmission de ces agents pathogènes. Cette approche peut donc conduire à une diminution des infections associées, améliorant ainsi la gestion des infections nosocomiales [215]. La colonisation nasale chez le personnel médical pourrait à son tour contribuer à la transmission des infections associées aux soins, agissant en tant que vecteurs ou réservoirs [208].

Une hétérogénéité a été constatée dans la résistance aux ATB parmi les isolats. La vancomycine et la pristinamycine ont montré une activité efficace contre l'ensemble des isolats, corroborant ainsi les conclusions de diverses études qui n'ont identifié aucune résistance à ces ATB [23], [221], [222]. En revanche, contrairement à Rebiahi et al., (2011) [223], qui a observé la présence de trois souches manifestant une résistance à cet ATB, en le confirmant par l'identification du gène correspondant (*van a*).

Selon nos constatations, un taux de résistance de 87% (80 souches) à la pénicilline a été noté. Ceci est en accord avec les résultats de l'étude menée par Bounar-Kechih et al., (2018) [224] qui a révélé un taux de 81%. Néanmoins, ces observations diffèrent de celles rapportées par Hachemi et al., (2019) [225], qui a indiqué un taux de résistance de 25%. Notre analyse révèle un taux de résistance à la gentamicine de 3% (3 souches), ça corrobore (2%) avec les résultats de Pereira et al., 2009 [226] et inférieure à ceux rapportés (6,25%) par Ouchenane et al., (2013) [227]. Cependant, ce pourcentage reste inférieur aux niveaux de résistance signalés par Ahmadi et al., (2013) [218] (15%) et Rebiahi, (2011) [223] (30%).

Dans le cadre de cette étude, l'antibiogramme a mis en évidence 3 souches identifiées par Jemaa et al., (2021) [228] (6,7%) et avec les résultats d'Aouati et al., (2021) [20] qui n'a rapporté aucune résistance à la rifampicine. En revanche, il contraste avec le pourcentage plus élevé de Javad et al., (2013) [218] en Iran (19%).

La totalité de nos souches (100%) s'est révélée sensible à la linezolid et au triméthoprim/sulfaméthoxazole, indiquant ainsi l'absence de résistance à ces antimicrobiens. Ces résultats sont parfaitement cohérents avec les études de Chenouf

et al., (2021) [229] qui ont trouvé un pourcentage similaire, bien que légèrement inférieur à celui de l'étude menée par Aouati et al., (2021) [20] (5%).

La résistance à la fosfomycine a été observée dans 6 (6,5%) isolats ; d'autres études ont rapporté des pourcentages nuls, tandis que Chaalal et al., (2018) [23] Hachemi, (2019) [225] et Tamendjari et al., (2019) [230] ont trouvé des taux de 29%, 33% et 42%, respectivement.

L'acide fusidique a montré une efficacité de résistance contre 32 (35%) isolats, dépassant ainsi le taux enregistré par Aouati et al., (2021) [20] (12%) mais demeurant inférieure aux pourcentages constatés par Touaitia, (2016) [231] et Tamendjari et al., (2021) [232] (66%).

Tous les isolats ont montré une sensibilité à la triméthoprim-sulfaméthoxazole ce qui est semblable à l'étude de Chenouf et al., (2021) [229] ayant trouvé aucune résistance à cet ATB. A l'inverse Aouati et al., (2021) [20] qui ont trouvé un pourcentage de 5%.

Sur le plan thérapeutique, la clindamycine est l'une des rares alternatives pour contrer la résistance émergente à la méticilline chez les SARM. La clindamycine peut également induire une suppression des facteurs de virulence présents chez ce microorganisme, entraînant une diminution de la production de PVL, TSST, ou encore la HLA. Cependant, une utilisation inappropriée, parfois excessive, des MLSB a conduit à l'émergence de souches résistantes à ces ATB, représentant ainsi un nouveau défi dans le traitement des infections staphylococciques [6], [7].

Au quotidien, en laboratoire lors des tests de routine *in vitro*, il est souvent difficile d'identifier le phénotype iMLSB car les isolats semblent être sensibles à la clindamycine tout en étant résistants à l'érythromycine, créant ainsi une fausse sensibilité. Cette situation peut entraîner des échecs thérapeutiques si la clindamycine est utilisée pour traiter le patient. Par conséquent, déclarer que *S. aureus* est sensible à la clindamycine sans vérifier la présence d'une résistance inducible peut conduire à la prescription d'un traitement inapproprié à la clindamycine, avec pour conséquence un échec thérapeutique [233]. Par conséquent, l'émergence de souches résistantes

aux MLSB représente un nouveau défi dans le traitement des infections staphylococciques [7].

Ce type de résistance inductible (phénotype iMLSB) a été exprimé par 16 de nos isolats (17,4%). Ces dernières ont montré une zone d'inhibition en coupe de D.

Des études internationales ont rapporté des taux variables de phénotype iMLSB, parfois se rapprochant des résultats obtenus par cette étude. Citons, par exemple, le cas en Inde (14,5%), aux États-Unis (15,88%) et en Turquie (19,8%) [234], [235], [236]. Néanmoins, ce pourcentage reste élevé par rapport à ceux rapportés par plusieurs auteurs tels que le Niger (5,9%), le Brésil (7,9%) et l'Inde (9%), mais demeure inférieur aux études menées en Jordanie (46,5%) [233], [237],[238],[239]

La résistance au phénotype iMLSB observée dans les 16 isolats concernés par cette étude était principalement médiée par le gène *ermT* (9 isolats, dont 4 SARM), suivi de l'*ermC* (6 isolats, dont 1 SARM). Un seul isolat portant le gène *ermA* a été détecté, et aucun isolat abritant le gène *ermB* n'a été trouvé.

À notre connaissance, jusqu'à ce jour, les recherches consacrées à la résistance inductible à la clindamycine chez *S. aureus* sont inexistantes. Aucune étude établie en Algérie n'est dédiée à la recherche de ce phénotype et des gènes qui y sont responsables.

Cependant, les rares études menées en Algérie ayant établis WGS des *S. aureus* dans le but d'étudier le plan génétique de la résistance bactérienne de ce microorganisme n'ont détecté que la présence des gènes *ermA*, *ermB*, *ermC* avec absence complète du gène *ermT*.

Notre étude semble révéler pour la première fois la présence du gène *ermT* en Algérie et montrer une prépondérance du gène *ermT* par rapport à l'*ermB* prédominant dans de nombreux pays [20], [21], [240], [241]. Les résultats de cette étude sur la fréquence et la dominance du gène *ermT* sont donc en discordance avec de nombreuses études rapportées précédemment où plus fréquemment *ermB* est le plus abondant par rapport aux autres gènes ou parfois *ermC* ; avec une absence ou une

rareté du gène *ermT*. Nous citons comme exemple l'étude menée en Égypte où *ermB* se présentait avec un pourcentage de 45% et une autre en France qui a montré un taux de 43% pour *ermC* et 9% pour *ermT* [242], [243].

Cette divergence dans la distribution des gènes pourrait s'expliquer par les variations entre les zones géographiques, ainsi que par les différences dans les prescriptions d'antimicrobiens par les médecins, les groupes d'âge des patients examinés, les espèces bactériennes, l'origine des échantillons et la source des souches (communautaire ou nosocomiale). Il est également possible que ces variations diffèrent même d'un hôpital à l'autre [242]. La prévalence des gènes *erm* a été rapportée comme étant assez similaire dans différents pays ce qui n'est pas le cas dans notre étude. Cela souligne la nécessité de mener une étude spécifique, approfondie et proche de cette résistance en Algérie. Il est impératif d'instaurer une surveillance locale pour recueillir des données pertinentes sur la résistance inductible des Staphylocoques à la clindamycine dans ce pays.

La clindamycine peut également entraîner la suppression de facteurs de virulence chez ces bactéries, réduisant ainsi la production de PVL, TSST et HLA. Son utilisation peut être envisagée dans le traitement des infections liées à ces toxines. Cependant, en raison du risque d'acquisition constitutive de la résistance à la MLSB lors du traitement par la clindamycine, il est recommandé de l'associer à un ATB bactéricide efficace pour le traitement des infections graves à *S. aureus* liées à ces toxines [6], [244].

Dans notre étude, le SCCmecIV était dominant où il représentait 8/10 SARM isolés, tandis que 2/10 étaient des SCCmecV. Ces deux types sont associés à la communauté, contrairement aux types I, II et III, qui ont été associés aux hôpitaux [243]. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études menées en Chine, au Brésil et en Arménie, qui ont établi une caractérisation des SARM isolés d'un milieu hospitalier et du portage nasal des patients et qui ont rapporté une prédominance de SARM d'origine communautaire en milieu nosocomial et parfois même la présence exclusive de ce dernier et l'absence du SARM-HA, ce qui montre la flexibilité et l'élasticité des frontières entre l'hôpital et la communauté [200], [211], [213].

Le classement et les distinctions de ces catégories (communautaires ou hospitalières) sont floues en raison du mouvement des isolats d'un environnement à l'autre où chaque clone est doté de traits distincts [245].

La différenciation entre les clones de *S. aureus* a longtemps été basée sur des méthodes de séquençage tel que le MLST et le typage du spa mais ont récemment été remplacées par des données plus informatives de WGS [246].

Dans cette étude, le pangénome obtenu a clustérisé nos génomes bactériens en 7 CC multinationaux. Majoritairement en ST398, qui a rarement fait objet d'une description en Algérie [238]. À l'époque de ses premiers rapports, ce clone était associé au bétail et à la colonisation des animaux de ferme, intervenant occasionnellement dans la pathogenèse d'infections chez ces derniers. Par la suite, il a été détecté chez des travailleurs en contact étroit avec le bétail et d'autres animaux de ferme, les isolats humains étant génétiquement apparentés à ceux recueillis chez les animaux. Un nombre croissant d'infections graves, principalement causées par ces souches, a été rapporté dans une étude canado-chinoise [247]. Des recherches ont mis en évidence ces isolats chez des personnes sujettes à des infections invasives à *S. aureus* en l'absence d'exposition au bétail et ils ont été principalement décrits comme des isolats SARM [248]. Après avoir analysé une collection mondialement diverse de souches CC398, Price et al., (2012) [249] ont apporté la preuve que le SARM ST398 a émergé du SARM ST398 qui représente son clade basal. Contrairement à ST398 SARM, ST398 SARM porte généralement des phages hébergeant des gènes de virulence humaine tels que sak, chp et scn et sont généralement liés à une communauté, ces deux formes, peuvent être virulentes de manière considérable [248] [249]. La résistance de CC389 aux ATB couramment prescrits et son potentiel décrit de transmission au-delà d'autres génotypes sont préoccupants car ils réduisent les options de traitement ce qui a des implications cliniques importante. La résistance de ce clone à la clindamycine et à l'érythromycine a beaucoup été évoquée ; comme c'est le cas dans notre étude. Une recherche américaine a rapporté des résultats semblables et a décrit que ce clone avec ce type de résistance était en croissance [250].

Nous avons caractérisé aussi des souches SARM-ST80 qui représente le clone prédominant en Algérie, retrouvé dans plusieurs niches, les cavités nasales, les

prélèvements humains, les animaux, les aliments et l'eau [24], [240]. Ce clone pandémique a fait son apparition pour la première fois dans ce pays entre 2003 et 2004 à la fois chez des patients hospitalisés et ambulatoires [251]. Ultérieurement, au cours de la décennie 2000, des recherches l'ont déclaré comme responsable de plus d'un tiers des infections communautaires et nosocomiales au centre (Alger) (35,7 et 35,8 %) [229]. Des analyses de l'horloge moléculaire et des données épidémiologiques ont fourni une représentation convaincante de l'émergence du complexe clonal 80 (CC80) depuis des origines en Afrique subsaharienne au début des années 1980. Par la suite, il a montré une large diffusion jusqu'à devenir le clone dominant du SARM-CA en Europe. Actuellement, ce clone est devenu couramment présent chez l'homme en Afrique du Nord, en Afrique subsaharienne et au Moyen-Orient [24], [252], [253]. Conformément à nos résultats, la plupart des souches ST80 rapportées dans la littérature appartiennent à SCCmec de type IV PVL+ et sont généralement associées à des infections graves de la peau et des tissus mous et à une pneumonie nécrosante. Toutefois, des souches ST80 PVL+ ont également été rapportées dans des cas cliniques [254].

D'autres clones internationaux connus ont fait l'objet d'une identification dans notre étude, dont le SARM-ST22, qui est originaire d'Europe et qui s'est vite propagé pour être décrit par la suite à Singapour. C'est une lignée pandémique qui a une grande capacité de propagation [255]. Il est considéré comme un clone cliniquement important où diverse épidémie dans le monde y ont été attachées [256]. Il est principalement connu sous le nom de génotype du clone SARM-15. Initialement lié aux soins de santé, comme décrit au Royaume-Uni en 2017, des études ultérieures ont signalé son augmentation dans le portage et son implication dans la maladie en milieu communautaire. Il possède la capacité d'abriter d'importants gènes de virulence, tels que *tsst-1* [257], [258]. Comme c'est le cas pour toutes les souches de ce clone que nous avons isolées dans notre étude actuelle. Ce clone a été décrit comme très virulent, montrant une forte capacité d'invasion des cellules *in vitro* et une grande pathogénicité *in vivo* [259].

Nous retrouvons aussi le ST30 ; ST5 ; ST6 et le ST15. A la différence des autres clones qui sont décrits comme ayant une certaine spécificité de continent, le ST30 est distribué dans le monde entier [260]. En effet, ce CC majeur a été signalé dans plusieurs études menées dans différents pays comme ayant un impact significatif

sur la santé humaine. Une étude américaine l'a décrit comme présentant une prévalence plus élevée dans les infections sanguines, ce qui pourrait influencer sa capacité à provoquer des embolies [261], [262]. Il a également été identifié en Argentine avec le ST5 comme l'un des principaux types associés aux infections communautaires à SARM [263]. Cependant, nous avons également noté la présence du ST6, qui a été impliqué dans la transmission infectieuse tant dans les communautés que dans les hôpitaux et qui est fréquemment associé aux infections à *S. aureus* d'origine alimentaire. Une étude récente a signalé que ce clone était à l'origine d'une épidémie d'intoxication alimentaire à grande échelle au Vietnam [263], [264].

Le ST15 représente une lignée couramment retrouvée dans les narines antérieures, où il est isolé aussi bien chez les patients asymptomatiques que chez les patients malades. Il a été impliqué dans des infections chez des patients atteints de mucoviscidose en Chine, en Europe et en République tchèque [265], [266].

Des symptômes graves d'infections peuvent être engendrés par la production de protéines de surface qui facilitent l'adhérence bactérienne aux cellules et aux tissus de l'hôte, ainsi que par la sécrétion de certaines toxines extracellulaires. Parmi celles-ci, on compte l'hémolysine, l'entérotoxine, la leucotoxine et la TSST-1 [267].

S. aureus détient un large arsenal de facteurs de virulence qui s'expriment à travers plusieurs facteurs favorisant l'interaction des cellules bactériennes avec la matrice osseuse extracellulaire. Parmi ces facteurs, on retrouve les adhésines ou les MSCRAMM, qui facilitent la liaison aux molécules de la matrice adhésive [268].

Parmi les toxines ayant un rôle primordial dans la pathogenèse infectieuse causée par *S. aureus*, nous retrouvons la PVL et la TSST-1 [242]. Le TSST-1 avec les entérotoxines provoque l'induction de la prolifération des cellules T sans qu'il y ait une reconnaissance antigénique. Le TSST-1 est connu également pour être responsable du syndrome du choc toxique et des infections suppuratives [20]. La PVL est associée aux pneumonies nécrosantes et aux infections des tissus mous, jouant un rôle mécanique en provoquant la lyse des neutrophiles [269].

L'ensemble de nos isolats ST80 présente une positivité au PVL, une caractéristique qui est typique au profil des isolats ST80-SARM européens, avec une fréquence de positivité au PVL atteignant 90% [165]. En Chine, 20% des *S. aureus* a été documentée en tant que producteurs de la TSST-1. Ces souches sont

fréquemment associées à divers sérotypes, notamment ST5, ST22, ST6 et ST30, comme indiqué dans les études de Goudarzi et al., (2020) [240] et Zhao et al., (2019) [270].

La totalité de nos souches SARM-ST22 et SASM-ST30 présente une positivité au gène codant pour la TSST-1. Ces isolats reflètent les caractéristiques moléculaires habituelles des souches européennes de SARM de type ST80, qui sont associées au SCCmec IV et à la présence des gènes codant pour la PVL (*lukS-PV* et *lukF-PV*). Ces résultats concordent avec l'analyse de Mairi et al., (2020) [165], indiquant que près de 90% des souches de SARM de type ST80 se caractérisent par une positivité à la PVL.

De manière similaire, des recherches ont démontré que 20% des *S. aureus* sont identifiés en tant que producteurs de la TSST-1. Ces souches sont fréquemment associées à différents sérotypes tels que ST5, ST22, ST6 et ST30, selon les conclusions des études menées par [240], [270].

Toutes les souches de *S. aureus* de types ST6 et ST30 portaient le gène de l'entérotoxine *sea*, tandis que *seb* a été identifié dans les souches de ST5 et *seh* dans celles de ST80. Les trois gènes mentionnés ont été détectés dans des souches d'origine environnementale et nasale. Ces facteurs de virulence sont associés aux intoxications alimentaires staphylococciques et ont un impact significatif sur la santé humaine [22], [121].

S. aureus a la capacité de former des biofilms, des structures polymères extracellulaires complexes qui permettent à la bactérie de survivre en adoptant un statut intracellulaire appelé variante de micro colonie. Ce mode de vie confère à la bactérie un environnement sécurisé et fonctionnel, la protégeant ainsi contre les conditions hostiles et les agents antibactériens [64].

Dans cette étude, tous les isolats de *S. aureus* ont un coefficient de Chargaff de 32%, cela rejoint ce qui a été rapporté antérieurement [272]. Toutes nos souches portent les gènes *icaADBC* et *icaR*, responsables de la formation de biofilms, de la production de mucus et de sa régulation facilitant l'attachement aux surfaces environnementales, ce qui pourrait expliquer la difficulté de les éradiquer [165].

Pareillement, le gène *scn* qui d'après Rooijackers et al., (2005) [273] bloque spécifiquement l'activation du système du complément humain a été identifié dans toutes nos souches.

Nous avons identifié dans nos isolats environnementaux de *S. aureus* du type ST22 un cluster d'immuno-évasion, caractérisé par la combinaison de gènes tels que *chp*, *sak*, *scn* et/ou *sea*. Ce cluster a été documenté dans la littérature comme étant spécifique à l'homme, favorisant ainsi l'adaptation de la bactérie à l'hôte humain, comme indiqué dans les études d'Agabou et al., (2017) [172] et van Wamel et al., (2006) [274]. Ces souches SARM-IV-ST22-TSST-1+ semblent donc provenir d'une personne qui a contaminé son environnement. En outre, nous avons constaté la présence de *S. aureus* de type ST398 portant le gène *ermT* dans les trois types d'échantillons prélevés, bien que *ermT* ait été précédemment identifié comme l'un des marqueurs définissant le clade humain du ST398 comme indiquait dans les travaux de Wysocka et al., (2021) [275]. Nous suggérons de ce fait l'existence d'un échange bactérien entre le portage nasal et l'environnement hospitalier, rendant ces deux niches un réservoir d'agents pathogènes et une source d'infections postopératoires.

Les conclusions de cette étude mettent en évidence que la colonisation nasale par *S. aureus*, y compris la forme résistante à la pénicilline (SARM), constitue un facteur de risque pour la contamination de l'environnement hospitalier. Les surfaces à proximité des patients et du personnel hospitalier colonisés par le SARM et le SASM présentent fréquemment des résultats positifs, renforçant ainsi leur rôle en tant que réservoir potentiel pour les infections postopératoires. De plus, ces observations offrent un aperçu de la diversité des clones de SARM et de *S. aureus* présentant une résistance à la clindamycine (iMLSB) dans les milieux hospitaliers en Algérie, incluant des lignées observées à l'échelle internationale. Ces données suggèrent également que les souches de *S. aureus* de type communautaire pourraient pénétrer dans les établissements de santé de ce pays.

Les *staphylocoques* dorés trouvent leur origine principale chez les patients infectés ou colonisés, bien que l'environnement, notamment les objets contaminés, puisse occasionnellement jouer un rôle. La colonisation est influencée par divers facteurs tels que l'âge, l'état de santé global, et la présence de conditions médicales

particulières telles que l'eczéma, la dermatite, ou le diabète traité par l'insuline. Des éléments tels qu'une hospitalisation prolongée et une antibiothérapie augmentent également le risque de SARM. Les infections liées au SARM présentent des similitudes avec celles dues aux staphylocoques dorés sensibles aux ATB.

Le risque de développement d'une infection chez un patient colonisé par le SARM est particulièrement associé à des conditions spécifiques telles que la dialyse, la présence de maladies chroniques sous-jacentes (diabète, maladie vasculaire périphérique avec ulcères), des maladies graves (cancer avancé), ainsi que la présence de plaies chirurgicales ou de dispositifs médicaux tels que sondes urinaires, cathéters intra-veineux, gastrostomie, etc.

La transmission du *staphylocoque* doré se produit principalement par contact direct, impliquant les mains du personnel et le contact entre les patients. Le risque de transmission dépend de plusieurs facteurs, certains liés au patient porteur (gravité de l'infection à SARM, infections de plaies, pneumonie) et d'autres liés à la relation entre patients et sujets "contact" (présence de facteurs de risque pour une colonisation/infection). Ces facteurs de risque sont particulièrement présents dans les populations de patients en soins aigus, notamment en soins intensifs et services de brûlés. Le risque de transmission est également influencé par la mise en place de mesures de prévention.

CONCLUSION GENERALE

Les recherches effectuées dans le cadre de cette thèse doctorale ont présenté une description et une caractérisation de *S. aureus* présents dans un environnement hospitalier et dans le portage nasal. Elles ont permis d'obtenir un aperçu détaillé de la caractérisation moléculaire de ces isolats.

Les conclusions de cette étude ont confirmé la présence de souches SARM et SASM dans divers sites hospitaliers. Ces résultats ont mis en évidence une diversité génétique significative en termes de résistance aux antimicrobiens et de virulence parmi les souches isolées.

Nous avons constaté une prévalence de 13% de *S. aureus*, dont 1,25% étaient des souches résistantes à la méticilline (SARM). En ce qui concerne le portage nasal, 27% des patients et 30% des professionnels de la santé étaient colonisés par le *S. aureus* dans leurs narines, avec des taux de 2,7% et 5% respectivement pour le SARM.

L'étude de la résistance bactérienne a examiné deux aspects, le premier s'est intéressé à l'aspect phénotypique où nous avons analysé la résistance à divers ATB. Les résultats ont révélé une forte résistance à la pénicilline (80 %). Tandis que des taux de résistance inférieure à ce dernier ont été exprimés vis-à-vis d'autres ATB comme pour l'acide fusidique (35 %), la ciprofloxacine (23 %), l'érythromycine (22 %), la clindamycine (17 %), l'oxacilline (16,3 %), la céfoxitine (10,8 %) etc...

Le deuxième aspect concernait le plan génomique de la résistance. Le gène *mecA* était présent chez tous les isolats qui ont montré une résistance à la méticilline. Ce gène était localisé sur deux types d'éléments génétiques mobiles : SCCmec IVa (2B) et Vc (5C2&5). Les gènes de résistance aux macrolides détectés comprenaient *ermT* (n = 9), *ermA* (n = 1), *ermC* (n = 6) et *msrA* (n = 4).

Un grand nombre de gènes de virulence a été détecté, certains codant pour des toxines, des hémolysines, des adhésines et des composants de la capsule. Le gène codant pour PVL a été retrouvé dans 7 isolats et celui pour TSST-1 a été retrouvé dans 17 souches.

De même, cette étude a démontré que le SARM présentant un génotype communautaire, peut être détecté dans les établissements de soins de santé. Le SCC mec IV dans cette étude était dominant, il représentait 8/10 des SARM isolés, tandis que les 2 restant étaient des SCC mec Vc. Ces types seraient associés à la communauté, contrairement aux types I, II et III, qui sont selon la littérature associés aux hôpitaux ce qu'illustre la souplesse des frontières entre l'hôpital et la communauté.

Cette étude a également mis en évidence la circulation de divers clones pathogènes de SARM, SASM et iMLSB au sein d'un hôpital en Algérie, révélant ainsi la présence d'une diversité de clones internationaux. Les souches ont été regroupées en sept séquences types (ST) différents, principalement ST398 (n = 9), suivies de ST6 (n = 4), ST5, ST22, ST80, ST15 (n = 2) et ST30 (n = 1).

Huit types de Spa ont été identifiés (t311 ; t3243 ; t12236 ; t346 ; t571 ; t042 ; t044 ; t899) et un était inconnu.

Pour identifier les clusters au sein de notre collection bactérienne, un pangénome a été établi. Celui-ci a mis en évidence une similitude entre des souches provenant à la fois de l'environnement hospitalier et de patients (ST80, ST6), ainsi qu'entre celles de l'environnement hospitalier et du personnel soignant (ST5), bien qu'elles aient été collectées à des mois d'intervalle.

Pour prévenir la contamination de l'environnement dans un milieu hospitalier et les infections nosocomiales, des mesures préventives doivent être mises en place. Celles-ci comprennent le renforcement des pratiques d'hygiène pour le personnel et les patients, ainsi qu'une désinfection régulière et approfondie de tous les équipements et surfaces. Il est également recommandé d'instaurer un dépistage systématique des patients présentant des facteurs de risque.

Comme perspectives et à long terme, des études à grande échelle sont nécessaires pour mieux comprendre la prévalence et l'épidémiologie moléculaire du SARM et de *S. aureus* iMLSB dans les établissements de santé algériens. Cette recherche devrait se concentrer sur une surveillance plus systématique des patients,

du personnel et des milieux hospitaliers, ainsi que sur une analyse approfondie pour mieux comprendre les facteurs de risque potentiels de transmission et la diversité génétique. Ces informations sont essentielles pour mettre en œuvre des stratégies plus efficaces de gestion et de prévention des infections nosocomiales dans les hôpitaux algériens. Des précautions doivent être prises, telles que des mesures d'hygiène renforcées pour le personnel et les patients, ainsi qu'une désinfection régulière et efficace de tous les équipements et surfaces.

La réussite de ces stratégies dépendra d'un changement culturel, mettant l'accent sur la responsabilité à la fois institutionnelle et individuelle.

A titre de recommandation, les précautions standards sont cruciales car elles interfèrent avec le principal mode de transmission, qui est le contact direct. Elles aident à prévenir la transmission par des patients porteurs non diagnostiqués et peuvent également empêcher la propagation d'autres micro-organismes transmis par contact direct. Les mesures supplémentaires pour les patients présentant une infection ou une colonisation connue ou suspectée par le SARM dépendent du risque de transmission (infection vs colonisation) et du risque d'infection (niveau d'hospitalisation). Celles-ci incluent des mesures de contact supplémentaires par le personnel, l'attribution de chambres séparées ou le regroupement des patients, le dépistage des contacts (recherche de SARM parmi les voisins des chambres et éventuellement le personnel) et éventuellement la décolonisation basée sur des facteurs de risque. Plus spécifiquement, la décolonisation en se basant sur les facteurs de risque, notamment les cas index nosocomiaux ou une exposition voisine dépassant

References

- [1] Turner NA, Sharma-Kuinkel BK, Maskarinec SA, Eichenberger EM, Shah PP, Carugati M, Holland TL, Fowler VG Jr. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research", *Nat Rev Microbiol.* vol. 17, no. 4, (2019), 203-218.
- [2] Tristan A, Rasigade JP, Ruizendaal E, Laurent F, Bes M, Meugnier H, Lina G, Etienne J, Celard M, Tattevin P, Monecke S, Le Moing V, Vandenesch F; French AEPEI study Group on Infective Endocarditis. Rise of CC398 lineage of *Staphylococcus aureus* among Infective endocarditis isolates revealed by two consecutive population-based studies in France. *PLoS One.* vol. 7, no. 12, (2012), 51172.
- [3] Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res.* vol. 2, no. 1, (2003), 63-76.
- [4] Djoudi F., Benallaoua S., Aleo A., Touati A., Challal M., Bonura C., Mammina C. Descriptive Epidemiology of Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Among Patients Admitted to Two Healthcare Facilities in Algeria. *Microb. Drug Resist.* vol. 21, (2014), 218- 223.
- [5] Borg, M.A.; de Kraker, M.; Scicluna, E.; van de Sande-Bruinsma, N.; Tiemersma, E.; Monen, J.; Grundmann, H. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries. *J. Antimicrob. Chemother.* vol. 60, (2007), 1310–1315
- [6]. D. L. Stevens, Y. Ma, D. B. Salmi, E. McIndoo, R. J. Wallace, et A. E. Bryant, " Impact of Antibiotics on Expression of Virulence-Associated Exotoxin Genes in Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ", *J. Infect. Dis.*, vol. 195, no. 2, (2007), 202-211 .
- [7] J. Davies et D. Davies, " Origins and Evolution of Antibiotic Resistance ", *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, (2010).
- [8] Sabouni F., Mahmoudi S., Bahador A., Pourakbari B., Sadeghi R.H., Ashtiani M.T.H., Nikmanesh B., Mamishi S. Virulence Factors of *Staphylococcus aureus* Isolates in an Iranian Referral Children's Hospital. *Osong Public Health Res. Perspect.* vol. 5, (2014), 96.
- [9] Köck, R.; Becker, K.; Cookson, B.; van Gemert-Pijnen, J.E.; Harbarth, S.; Kluytmans, J.A.J.W.; Mielke, M.E.; Peters, G.; Skov, R.L.; Struelens, M.J.; et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Burden of disease and control challenges in Europe. *Eurosurveillance* vol. 15, (2010), 19688.
- [10] Kates AE, Thapaliya D, Smith TC, Chorazy ML. Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* from human stool samples. *Antimicrob Resist Infect Control.* vol. 7, no. 42, (2018).

- [11] Botelho-Nevers E, Gagnaire J, Verhoeven PO, Cazorla C, Grattard F, Pozzetto B, Berthelot P, Lucht F. "Decolonization of Staphylococcus aureus carriage ", *Med. Mal. Infect.*, vol. 47, no. 5, (2017), 305-310.
- [12]. R. W. Loftus, F. Dexter, et A. D. M. Robinson, "High-risk Staphylococcus aureus transmission in the operating room: A call for widespread improvements in perioperative hand hygiene and patient decolonization practices ", *Am. J. Infect. Control*, vol. 46, no. 10, (2018), 1134- 1141.
- [13] Clarridge JE 3rd, Harrington AT, Roberts MC, Soge OO, Maquelin K. Impact of strain typing methods on assessment of relationship between paired nares and wound isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Clin Microbiol.* vol. 51, no. 1, (2013), 224-31.
- [14] Fernando S. A., Gray T. J., Gottlieb T. Healthcare-acquired infections: prevention strategies. *Internal Medicine Journal* . vol. 47, no. 12, (2017), 1341–1351.
- [15] Eells SJ, David MZ, Taylor A, Ortiz N, Kumar N, Sieth J, Boyle-Vavra S, Daum RS, Miller LG. Persistent environmental contamination with USA300 methicillin-resistant Staphylococcus aureus and other pathogenic strain types in households with S. aureus skin infections. *Infect Control Hosp Epidemiol.* vol. 35, no. 11, (2014),1373-82.
- [16]Kateete, D.P., Asiimwe, B.B., Mayanja, R. *et al.* "Nasopharyngeal carriage, *spa* types and antibiotic susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* from healthy children less than 5 years in Eastern Uganda. *BMC Infect Dis* 19, (2019).
- [17] Williams PCM, Isaacs D, Berkley JA. "Antimicrobial resistance among children in sub-Saharan Africa". *Lancet Infect Dis.* vol. 18, no. 2, (2018), 33-34.
- [18] Falagas, M.E.; Karageorgopoulos, D.E.; Leptidis, J.; Korbila, I.P. "MRSA in Africa: Filling the global map of antimicrobial resistance". *PLoS ONE* vol. 8, no. 1, (2013), 68024.
- [19] M. A. Ouidri, " Screening of nasal carriage of methicillin-resistant Staphylococcus aureus during admission of patients to Frantz Fanon Hospital, Blida, Algeria ", *New Microbes New Infect.*, vol. 23, (2018), 52-60.
- [20] Aouati H, Hadjadj L, Aouati F, Agabou A, Ben Khedher M, Bousseboua H, Bentchouala C, Rolain JM, Diene SM., "Emergence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus ST239/241 SCCmec-III Mercury in Eastern Algeria", *Pathog. Basel Switz.*, vol. 10, no. 11, (2021), 1503.
- [21].Achek R, El-Adawy H, Hotzel H, Hendam A, Tomaso H, Ehricht R, Neubauer H, Nabi I, Hamdi TM, Monecke S. "Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Human and Food Samples in Northern Algeria. *Pathogens.*" vol. 3, no. 10, (2021), 1276.
- [22]. Titouche Y, Houali K, Ruiz-Ripa L, Vingadassalon N, Nia Y, Fatihi A, Cauquil A, Bouchez P, Bouhier L, Torres C, Hennekinne JA. "Enterotoxin genes and

antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from food products in Algeria. *J Appl Microbiol.*" vol. 129, no. 4, (2020), 1043-1052.

[23] W. Chaalal, N. Chaalal, N. Bourafa, K. Mebrouk, S. Diene, et J.-M. Rolain, " Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Products in Western Algeria ", *Foodborne Pathog. Dis.*, vol. 15, (2018).

[24].Agabou A., Ouchenane Z., Ngba Essebe C., Khemissi S., Chehboub MTE, Chehboub IB, Sotto A., Dunyach-Remy C., Lavigne J.-P. "Emergence du transport nasal des isolats de *Staphylococcus aureus* ST80 et ST152 PVL+ à partir du bétail en Algérie. *Toxines.*" vol. 9, no. 303, (2017).

[25] Monecke S, Kuhnert P, Hotzel H, Slickers P, Ehricht R. " Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of *Staphylococcus aureus* isolates from cattle". *Vet Microbiol.* vol. 125, no. (1-2), (2007), 128-40.

[26] Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, Mackenzie FM. "Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *Int J Antimicrob Agents.*" vol. 39, no. 4, (2012), 273-82.

[27] Spicer W., "Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie", Flammarion Médecine-Sciences, (2003), 28 - 29.

[28] Avril, J-L., Bactériologie clinique, 3ème édition, Ellipses, (2000).

[29] Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870–926.

[30] C. P. Parlet, M. M. Brown, et A. R. Horswill, " Commensal Staphylococci Influence *Staphylococcus aureus* Skin Colonization and Disease ", *Trends Microbiol.*, vol. 27, no. 6, (2019), 497-507.

[31] S. C. Morot-Bizot, "les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons ", (2006),144.

[32] C. Laux, A. Peschel, et B. Krismer, " *Staphylococcus aureus* Colonization of the Human Nose and Interaction with Other Microbiome Members ", *Microbiol. Spectr.*, vol. 7, no. 2, (2019), 7.2.34.

[33] S. Bronner, H. Monteil, et G. Prévost, "Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications ", *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 28, no. 2, (2004),183-200.

[34] F. Caby, R. Bismuth, et P. Bossi, « Infections à staphylocoques », EMC - Traité Médecine AKOS, vol. 5, (2010), 1-7.

[35] Fauchere, J-L. et Avril, J-L., Bactériologie générale et médicale, 3ème édition, Ellipses, Paris, (2002).

- [36] O. Denis, "Route of transmission of *Staphylococcus aureus* ", *Lancet Infect. Dis.*, vol. 17, no. 2, (2017), 124-125.
- [37] L. Fernandez et M. Turner, "The Chronicles of Incision Management ", *Chron. Incision Manag.*, vol. 1, (2017), 22.
- [38] E. Di Giannatale, V. Prencipe, A. Tonelli, C. Marfoggia, et G. Migliorati, "Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food for human consumption", *Vet. Ital.*, vol. 47, no. 2, (2011), 165-173.
- [39] S. Trouillet, "Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* ", *Microbiologie et Parasitologie*, (2011).
- [40] Inoshima I, Inoshima N, Wilke GA, Powers ME, Frank KM, Wang Y, Bubeck Wardenburg J. A., " A *Staphylococcus aureus* Pore-Forming Toxin Subverts the Activity of ADAM10 to Cause Lethal Infection ", *Nat. Med.*, vol. 17, no. 10, (2011), 1310-1314.
- [41] G. A. Wilke et J. B. Wardenburg, "Role of a disintegrin and metalloprotease 10 in *Staphylococcus aureus* α -hemolysin-mediated cellular injury ", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 107, no. 30, (2010), 13473-13478.
- [42] Nygaard TK., Pallister KB., DuMont AL., DeWald M., Watkins RL., Pallister EQ., Malone C., Griffith S., Horswill AR., Torres VJ., Voyich JM., "Alpha-toxin induces programmed cell death of human T cells, B cells, and monocytes during USA300 infection", *PloS One*, vol. 7, no. 5, (2012), 36532.
- [43] Grosjean, J., Clavé, D., Archambaud, M., Pasquier, C., *Bactériologie et virologie pratique*, 3ème édition, De Boeck Supérieur, (2017), 296.
- [44] F. Vandenesch, G. Lina, et T. Henry, "Staphylococcus aureus Hemolysins, bi-component Leukocidins, and Cytolytic Peptides: A Redundant Arsenal of Membrane-Damaging Virulence Factors? ", *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 2,(2012).
- [45] Wang M., Zheng Y., Mediavilla JR., Chen L., Kreiswirth BN., Song Y., Yang R., "Hospital Dissemination of *tst-1*-Positive Clonal Complex 5 (CC5) Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ", *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 7, (2017).
- [46] M. Rautenberg, H.-S. Joo, M. Otto, et A. Peschel, " Neutrophil responses to staphylococcal pathogens and commensals via the formyl peptide receptor 2 relates to phenol-soluble modulins release and virulence ", *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, vol. 25, no. 4, (2011), 1254-1263.
- [47] Kretschmer D., Gleske AK., Rautenberg M., Wang R., Köberle M., Bohn E., Schöneberg T., Rabiet MJ., Boulay F., Klebanoff SJ., van Kessel KA., van Strijp JA, Otto M., Peschel A., "Human formyl peptide receptor 2 senses highly pathogenic *Staphylococcus aureus*", *Cell Host Microbe*, vol. 7, no. 6, (2010), 463-473.

- [48] Chatterjee SS, Joo HS, Duong AC, Dieringer TD, Tan VY, Song Y, Fischer ER, Cheung GY, Li M, Otto M., " Essential Staphylococcus aureus toxin export system ", Nat. Med., vol. 19, no. 3, (2013), 364-367.
- [49] Surewaard BG, de Haas CJ, Vervoort F, Rigby KM, DeLeo FR, Otto M, van Strijp JA, Nijland R., " Staphylococcal alpha-phenol soluble modulins contribute to neutrophil lysis after phagocytosis ", Cell. Microbiol., vol. 15, no. 8, (2013), 1427-1437.
- [50] Geiger T, Francois P, Liebeke M, Fraunholz M, Goerke C, Krismer B, Schrenzel J, Lalk M, Wolz C., "The stringent response of Staphylococcus aureus and its impact on survival after phagocytosis through the induction of intracellular PSMs expression ", PLoS Pathog., vol. 8, no. 11, (2012), e1003016.
- [51] Nakamura Y, Oscherwitz J, Cease KB, Chan SM, Muñoz-Planillo R, Hasegawa M, Villaruz AE, Cheung GY, McGavin MJ, Travers JB, Otto M, Inohara N, Núñez G., " Staphylococcus δ -toxin induces allergic skin disease by activating mast cells ", Nature, vol. 503, no. 7476, (2013), 397-401.
- [52] Malachowa N, Whitney AR, Kobayashi SD, Sturdevant DE, Kennedy AD, Braughton KR, Shabb DW, Diep BA, Chambers HF, Otto M, DeLeo FR., " Global changes in Staphylococcus aureus gene expression in human blood ", PloS One, vol. 6, no.4, (2011), e18617.
- [53] C. Dunyach-Remy, C. Ngba Essebe, A. Sotto, et J.-P. Lavigne, "Staphylococcus aureus Toxins and Diabetic Foot Ulcers: Role in Pathogenesis and Interest in Diagnosis ", Toxins, vol. 8, no. 7, (2016), 7.
- [54] S. Boyle-Vavra et R. Daum, " Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: The role of Panton-Valentine leukocidin ", Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol., vol. 87, (2007), 3-9.
- [55] J.-A. Hennekinne, M.-L. De Buyser, et S. Dragacci, " Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation ", FEMS Microbiol. Rev., vol. 36, no. 4, (2012), 815-836.
- [56] C.-F. Lin et al., " Different types of cell death induced by enterotoxins ", Toxins, vol. 2, no.8, (2010), 2158-2176.
- [57] Y. Zhang, S. Cheng, G. Ding, M. Zhu, X. Pan, et L. Zhang, "Molecular analysis and antibiotic resistance investigation of Staphylococcus aureus isolates associated with staphylococcal food poisoning and nosocomial infections ", Afr. J. Biotechnol., vol. 10, no. 15, (2011), 15.
- [58] Salgado-Pabón W, Breshears L, Spaulding AR, Merriman JA, Stach CS, Horswill AR, Peterson ML, Schlievert PM., " Superantigens are critical for Staphylococcus aureus Infective endocarditis, sepsis, and acute kidney injury", mBio, vol. 4, noo 4, (2013), e00494-13.

- [59] Wilson GJ, Seo KS, Cartwright RA, Connelley T, Chuang-Smith ON, Merriman JA, Guinane CM, Park JY, Bohach GA, Schlievert PM, Morrison WI, Fitzgerald JR., " A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia ", *PLoS Pathog.*, vol. 7, no. 10, (2011), e1002271.
- [60] R. L. Stingley, H. Liu, L. B. Mullis, C. A. Elkins, et M. E. Hart, " Staphylococcus aureus toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) production and Lactobacillus species growth in a defined medium simulating vaginal secretions ", *J. Microbiol. Methods*, vol. 106, (2014), 57-66.
- [61] M. Eneroth, J. Apelqvist, et A. Stenström, "Clinical characteristics and outcome in 223 diabetic patients with deep foot infections", *Foot Ankle Int.*, vol. 18, no. 11, (1997), 716-722.
- [62] T.-X. Nhan, R. Leclercq, et V. Cattoir, " Prevalence of toxin genes in consecutive clinical isolates of Staphylococcus aureus and clinical impact ", *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 30, no. 6, (2011), 719-725.
- [63] Kaplan JB, Mlynek KD, Hettiarachchi H, Alamneh YA, Biggemann L, Zurawski DV, Black CC, Bane CE, Kim RK, Granick MS., " Extracellular polymeric substance (EPS)-degrading enzymes reduce staphylococcal surface attachment and biocide resistance on pig skin in vivo ", *PloS One*, vol. 13, no. 10, (2018), p. e0205526.
- [64] M. Idrees, S. Sawant, N. Karodia, et A. Rahman, "Staphylococcus aureus Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies ", *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, vol. 18, no. 14, (2021), 14.
- [65] N. K. Archer, M. J. Mazaitis, J. W. Costerton, J. G. Leid, M. E. Powers, et M. E. Shirtliff, " Staphylococcus aureus biofilms ", *Virulence*, vol. 2, no. 5, (2011), 445-459.
- [66] Reffuveille F, Josse J, Vallé Q, Mongaret C, Gangloff SC., "Staphylococcus aureus Biofilms and their Impact on the Medical Field" , *The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance*, (2017).
- [67] T. J. Foster, J. A. Geoghegan, V. K. Ganesh, et M. Höök, "Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus ", *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 12, no. 1, (2014), 49-62.
- [68] Zhang Y, Wu M, Hang T, Wang C, Yang Y, Pan W, Zang J, Zhang M, Zhang X. , "Staphylococcus aureus SdrE captures complement factor H's C-terminus via a novel 'close, dock, lock and latch' mechanism for complement evasion ", *Biochem. J.*, vol. 474, no. 10, (2017), 1619-1631.
- [69] S. R. Clarke, G. Andre, E. J. Walsh, Y. F. Dufrêne, T. J. Foster, et S. J. Foster, "Iron-Regulated Surface Determinant Protein A Mediates Adhesion of Staphylococcus aureus to Human Corneocyte Envelope Proteins ", *Infect. Immun.*, vol. 77, no. 6, (2009), 2408-2416.

- [70] Li MM, Datto M, Duncavage EJ, Kulkarni S, Lindeman NI, Roy S, Tsimberidou AM, Vnencak-Jones CL, Wolff DJ, Younes A, Nikiforova MN., "MRSA epidemic linked to a quickly spreading colonization and virulence determinant ", *Nat. Med.*, vol. 18, no. 5, (2012), 5.
- [71] Roche FM, Massey R, Peacock SJ, Day NPJ, Visai L, Speziale P, Lam A, Pallen M, Foster TJ., " Characterization of novel LPXTG-containing proteins of *Staphylococcus aureus* identified from genome sequences ", *Microbiology*, vol. 149, no. 3, (2003), 643-654.
- [72] J. M. Entenza, T. J. Foster, D. Ni Eidhin, P. Vaudaux, P. Francioli, et P. Moreillon, "Contribution of Clumping Factor B to Pathogenesis of Experimental Endocarditis due to *Staphylococcus aureus* ", *Infect. Immun.*, vol. 68, no. 9, (2000), 5443-5446.
- [73] I. R. Siboo, H. F. Chambers, et P. M. Sullam, "Role of SraP, a Serine-Rich Surface Protein of *Staphylococcus aureus*, in Binding to Human Platelets ", *Infect. Immun.*, vol. 73, no. 4, (2005), 2273-2280.
- [74] K. Becker, " Chapter 2 - Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* ", *Staphylococcus aureus*, A. Fetsch, Éd., Academic Press, (2018), 13-38.
- [75] F. Vincenot, M. Saleh, et G. Prévost, " Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* ", *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2008, no. 407, (2008), 61-69.
- [76] P. M. Schlievert, K. L. Strandberg, Y.-C. Lin, M. L. Peterson, et D. Y. M. Leung, "Secreted Virulence Factor Comparison Between Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus*, and its Relevance to Atopic Dermatitis ", *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 125, no.1, (2010), 39.
- [77] Accarias, S., " Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*", (2014).
- [78] Evans CJ, Aguilera RJ., " DNase II: genes, enzymes and function", *Gene*, (2003), 1-15.
- [79] A. Gnanamani, P. Hariharan, M. Paul-Satyaseela, A. Gnanamani, P. Hariharan, et M. Paul-Satyaseela, "Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach", IntechOpen, (2017).
- [80] Henry C. Baggett, Thomas W. Hennessy, Karen Rudolph, Dana Bruden, Alisa Reasonover, Alan Parkinson, Rachel Sparks, Rodney M. Donlan, Patricia Martinez, Kanokporn Mongkolrattanothai, Jay C. Butler," Community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with antibiotic use and the cytotoxin Pantone-Valentine leukocidin during a furunculosis outbreak in rural Alaska ", *J. Infect. Dis.*, vol. 189, no. 9, (2004), 1565-1573.

- [81] B. Alibayov, L. Baba-Moussa, H. Sina, K. Zdeňková, et K. Demnerová, " Staphylococcus aureus mobile genetic elements ", Mol. Biol. Rep., vol. 41, no. 8, (2014), 5005-5018.
- [82] Jamroz D, Coll F, Mather AE, Harris SR, Harrison EM, MacGowan A, Karas A, Elston T, Estée Török M, Parkhill J, Peacock SJ. " Evolution of mobile genetic element composition in an epidemic methicillin-resistant Staphylococcus aureus: temporal changes correlated with frequent loss and gain events ", BMC Genomics, vol. 18, no. 1, (2017), 684.
- [83] N. Malachowa et F. R. DeLeo, " Mobile genetic elements of Staphylococcus aureus ", Cell. Mol. Life Sci., vol. 67, no. 18, (2010), 3057-3071.
- [84] C. Jenul et A. R. Horswill, " Regulation of Staphylococcus aureus Virulence ", Microbiol. Spectr., vol. 7, no. 2, (2019), 7.2.29.
- [85] Batard E, Boutoille D, Lepelletier D, Caillon J, Potel G., " Thérapeutique des infections à staphylocoques". EMC-Maladies infectieuses, vol. 11, no. 1, (2014), 1-6.
- [86] G. A. Somerville et R. A. Proctor, "At the Crossroads of Bacterial Metabolism and Virulence Factor Synthesis in Staphylococci ", Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR, vol. 73, no. 2, (2009), 233-248.
- [87] P. Cholley, M. Thouverez, G.-H. Houssein, X. Bertrand, et D. Talon, " Application des méthodes de typage génomique au laboratoire d'hygiène ", Rev. Francoph. Lab., (2013), 65-67.
- [88] A. van Belkum et al., " Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology ", Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis., vol. 13, (2007), 1-46.
- [89] T. Khanna, R. Friendship, C. Dewey, et J. S. Weese, " Methicillin resistant Staphylococcus aureus colonization in pigs and pig farmers ", Vet. Microbiol., vol. 128, no. 3-4, (2008), 298-303.
- [90] A. Sabat, N. Malachowa, J. Miedzobrodzki, et W. Hryniewicz, "Comparison of PCR-Based Methods for Typing Staphylococcus aureus Isolates ", J. Clin. Microbiol., vol. 44, no. 10, (2006), 3804-3807.
- [91] P. Gerner-smidt, E. HyttiÄ-trees, et P. A. Rota, "Molecular Epidemiology ", in Manual of Clinical Microbiology, John Wiley & Sons, Ltd, (2011), 100-123.
- [92] T. C. Lorenz, "Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies", J. Vis. Exp. JoVE, no. 63, (2012), 3998.
- [93] I. M. Mackay, K. E. Arden, et A. Nitsche, "Real-time PCR in virology ", Nucleic Acids Res., vol. 30, no. 6, (2002), 1292-1305.
- [94] S. Dhanasekaran, T. M. Doherty, et J. Kenneth, " Comparison of different

standards for real-time PCR-based absolute quantification ", *J. Immunol. Methods*, vol. 354, no. 1, (2010), 34-39.

[95] J. Engstrom-Melnyk, P. L. Rodriguez, O. Peraud, et R. C. Hein, " Chapter 5 - Clinical Applications of Quantitative Real-Time PCR in Virology ", in *Methods in Microbiology*, vol. 42, (2015), 161-197.

[96] T. Lefèvre , N. Ris , G. Mitta., "Ecologie et évolution des systèmes parasités", *De Boeck*, (2007), pp.373-404.

[97] R. H. Deurenberg et E. E. Stobberingh, "The evolution of *Staphylococcus aureus* ", *Infect. Genet. Evol. J. Mol. Epidemiol. Evol. Genet. Infect. Dis.*, vol. 8, no. 6, (2008), 747-7637.

[98] M. Hallin, A. W. Friedrich, et M. J. Struelens, " spa typing for epidemiological surveillance of *Staphylococcus aureus* ", *Methods Mol. Biol. Clifton NJ*, vol. 551, (2009), 189-202.

[99] J. K. Teer et J. C. Mullikin," Exome sequencing: the sweet spot before whole genomes ", *Hum. Mol. Genet.*, vol. 19, no. 2,(2010), 145-151.

[100] D. C. Koboldt, K. M. Steinberg, D. E. Larson, R. K. Wilson, et E. Mardis, " The Next-Generation Sequencing Revolution and Its Impact on Genomics ", *Cell*, vol. 155, no. 1, (2013), 27-38.

[101] Y. Heo, G. Manikandan, A. Ramachandran, et D. Chen, " Comprehensive Evaluation of Error-Correction Methodologies for Genome Sequencing Data ", *Bioinformatics*, N. Helder I., Éd., Brisbane, (2021).

[102] Gupta N, Verma VK., " Next-Generation Sequencing and Its Application: Empowering in Public Health Beyond Reality", *Microbial Technology for the Welfare of Society*, (2019), 313.

[103] S. A. Moser, M. J. Box, M. Patel, M. Amaya, R. Schelonka, et K. B. Waites, "Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* discriminates within USA pulsed-field gel electrophoresis types ", *J. Hosp. Infect.*, vol. 71, no. 4, (2009), 333-339.

[104] Schouls LM, Spalburg EC, van Luit M, Huijsdens XW, Pluister GN, van Santen-Verheuvél MG, van der Heide HG, Grundmann H, Heck ME, de Neeling AJ., "Multiple-locus variable number tandem repeat analysis of *Staphylococcus aureus*: comparison with pulsed-field gel electrophoresis and spa-typing", *PLoS One.*, vol. 4, no. 4, (2009), 5082.

[105] R. I. Aminov, " Horizontal gene exchange in environmental microbiota ", *Front. Microbiol.*, vol. 2, (2011), 158.

- [106] M. Depledge, " Pharmaceuticals: Reduce drug waste in the environment ", *Nature*, vol. 478, no. 7367, (2011), 36.
- [107] Sax H, Posfay-Barbe K, Harbarth S, Francois P, Touveneau S, Pessoa-Silva CL, Schrenzel J, Dharan S, Gervaix A, Pittet D., " Control of a cluster of community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in neonatology", *J Hosp Infect.*, vol. 63, no. 1, (2006), 93-100.
- [108] B. Mlynarczyk-Bonikowska, C. Kowalewski, A. Krolak-Ulinska, et W. Marusza, " Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus* ", *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 15, (2022).
- [109] F. D. Lowy, "Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* ", *J. Clin. Invest.*, vol. 111, no. 9, (2003), 1265-1273.
- [110] S. J. Peacock et G. K. Paterson, " Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* ", *Annu. Rev. Biochem.*, vol. 84, (2015), 577-601.
- [111] P. S. Loomba, J. Taneja, et B. Mishra, "Methicillin and Vancomycin Resistant *S. aureus* in Hospitalized Patients ", *J. Glob. Infect. Dis.*, vol. 2, no. 3, (2010), 275-283.
- [112] G. Pesavento, B. Ducci, C. Nicola, et A. Lo Nostro, "Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ", *Food Control*, vol. 18, (2007), 196-200.
- [113] A. V, P. R, et B. M, " Prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections among patients admitted in critical care units in a tertiary care hospital ", *Int. J. Res. Med. Sci.*, vol. 5, no.6, (2017), 2362-2366.
- [114] it PS, Teh CS, Idris N, Sam IC, Syed Omar SF, Sulaiman H, Thong KL, Kamarulzaman A, Ponnampalavanar S., "Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection and the molecular characteristics of MRSA bacteraemia over a two-year period in a tertiary teaching hospital in Malaysia ", *BMC Infect. Dis.*, vol. 17, no. 1, (2017), 274.
- [115] M. Okwu, "STAPHYLOCOCCAL CASSETTE CHROMOSOME MEC (SCCMEC) TYPING OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCI OBTAINED FROM CLINICAL SAMPLES IN SOUTH-SOUTH, NIGERIA ", *World J. Pharm.*, vol. 5, (2016), 91-103.
- [116] C. Milheiro, D. C. Oliveira, et H. de Lencastre, " Update to the multiplex PCR strategy for assignment of mec element types in *Staphylococcus aureus* ", *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, no. 9, (2007), 3374-3377.
- [117] Hiramatsu K, Katayama Y, Matsuo M, Sasaki T, Morimoto Y, Sekiguchi A, Baba T., " Multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy ", *J. Infect. Chemother.*, vol. 20, (2014), 593-601.

- [118] M. F. Amirkhiz, M. A. Rezaee, A. Hasani, M. Aghazadeh, et B. Naghili, "SCCmec Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Eight Year Experience ", *Arch. Pediatr. Infect. Dis.*, vol. 3, no. 4, (2015).
- [119] D. Golemi-Kotra, J. Y. Cha, S. O. Meroueh, S. B. Vakulenko, et S. Mobashery, "Resistance to β -Lactam Antibiotics and Its Mediation by the Sensor Domain of the Transmembrane BlaR Signaling Pathway in *Staphylococcus aureus** 210 ", *J. Biol. Chem.*, vol. 278, no. 20, (2003), 18419-18425.
- [120] M. M. Hryniewicz et K. Garbacz, " Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) - a more common problem than expected? ", *J. Med. Microbiol.*, vol. 66, no. 10, (2017), 1367-1373.
- [121] Argudín MA, Roisin S, Nienhaus L, Dodémont M, de Mendonça R, Nonhoff C, Deplano A, Denis O., " Genetic Diversity among *Staphylococcus aureus* Isolates Showing Oxacillin and/or Cefoxitin Resistance Not Linked to the Presence of mec Genes ", *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 62, no. 7, (2018), e00091-18.
- [122] A. A. Venugopal et S. Johnson, " Fidaxomicin: A Novel Macrocyclic Antibiotic Approved for Treatment of *Clostridium difficile* Infection ", *Clin. Infect. Dis.*, vol. 54, no. 4, (2012), 568-574.
- [123] B. Mlynarczyk, A. Mlynarczyk, M. Kmera-Muszynska, S. Majewski, et G. Mlynarczyk, "Mechanisms of Resistance to Antimicrobial Drugs in Pathogenic Gram-Positive Cocci ", *Mini-Rev. Med. Chem.*, vol. 10, no. 10, (2010), 928-937.
- [124] Chen L, Mediavilla JR, Smyth DS, Chavda KD, Ionescu R, Roberts RB, Robinson DA, Kreiswirth BN., " Identification of a Novel Transposon (Tn6072) and a Truncated *Staphylococcal* Cassette Chromosome mec Element in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST239 ", *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, no. 8, (2010), 3347-3354.
- [125] A.-L. Prunier, H. N. Trong, D. Tande, C. Segond, et R. Leclercq, " Mutation of L4 ribosomal protein conferring unusual macrolide resistance in two independent clinical isolates of *Staphylococcus aureus* ", *Microb. Drug Resist. Larchmt*, vol. 11, no. 1, (2005), 18-20.
- [126] Schnellmann C, Gerber V, Rossano A, Jaquier V, Panchaud Y, Doherr MG, Thomann A, Straub R, Perreten V., " Presence of New mecA and mph(C) Variants Conferring Antibiotic Resistance in *Staphylococcus* spp. Isolated from the Skin of Horses before and after Clinic Admission ", *J. Clin. Microbiol.*, vol. 44, no. 12, (2006), 4444-4454.
- [127] M. Cassone, M. M. D'Andrea, F. Iannelli, M. R. Oggioni, G. M. Rossolini, et G. Pozzi, " DNA Microarray for Detection of Macrolide Resistance Genes ", *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 50, no. 6, (2006), 2038-2041.
- [128] Qin X, Poon B, Kwong J, Niles D, Schmidt BZ, Rajagopal L, Gantt S., " Two paediatric cases of skin and soft-tissue infections due to clindamycin-resistant

Staphylococcus aureus carrying a plasmid-encoded vga(A) allelic variant for a putative efflux pump ", *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 38, no. 1, (2011), 81-83.

[129] Lozano C, Rezusta A, Gómez P, Gómez-Sanz E, Báez N, Martín-Saco G, Zarazaga M, Torres C., " High prevalence of spa types associated with the clonal lineage CC398 among tetracycline-resistant methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains in a Spanish hospital ", *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, no. 2, (2012), 330-334.

[130] GAUDY C., BUXERAUD J., "Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique", Elsevier, (2005).

[131] T. J. Foster, " Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects ", *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 41, no. 3, (2017), 430-449.

[132] R. Leclercq, "Résistance des staphylocoques aux antibiotiques ", *Ann. Fr. Anesth. Réanimation*, vol. 21, no. 5, (2002), 375-383.

[133] C. Daurel et R. Leclercq, " L'antibiogramme de Staphylococcus aureus ", *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2008, no. 407, (2008), 81-90.

[134] J. C. Quincampoix et J. L. Mainardi, " Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif ", *Réanimation*, vol. 10, no. 3, (2001), 267-275.

[135] B. Gachot et P. Coriat, " Le risque médico-judiciaire des infections nosocomiales ", *Médecine Droit*, vol. 2019, no. 159, (2019), 137-141.

[136] J.-Y. Liu et J. K. Dickter, "Nosocomial Infections: A History of Hospital-Acquired Infections ", *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.*, vol. 30, no. 4, (2020), 637-652.

[137] Lukuke HM, Kasamba E, Mahuridi A, Nlandu RN, Narufumi S, Mukengeshayi AN, Malou V, Makoutode M, Kaj FM., " L'incidence des infections nosocomiales urinaires et des sites opératoires dans la maternité de l'Hôpital Général de Référence de Katuba à Lubumbashi en République Démocratique du Congo ", *Pan Afr. Med. J.*, vol. 28, (2017), 57.

[138] B. Pozzetto, "Microorganismes responsables d'infections nosocomiales, Sain Etienne", (2009), 567.

[139] E. S. Donkor, " Nosocomial Pathogens: An In-Depth Analysis of the Vectorial Potential of Cockroaches ", *Trop. Med. Infect. Dis.*, vol. 4, no. 1, (2019).

[140] T. Monnet, " Les infections nosocomiales l'importance d'un suivi : épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause: exemple de quelques techniques de diagnostic permettant cette identification précoce ", (2011), 93.

- [141] J. Delmont, Eric Pichard, S. Jauréguiberry, B. Marchou, P. Parola, et al.. " e-Pilly TROP Maladies infectieuses tropicales.", Alinéa Plus, (2012).
- [142] C. Bouvier-Slekovec, " Prévention et maîtrise des infections nosocomiales selon trois approches appliquées à différents niveaux d'action ", Theses, Université de Franche-Comté, (2013).
- [143] T. Mathieu, " La surveillance des infections nosocomiales. ", Décision Santé, no. 92, (1996),19-22.
- [144] Ghernaout-Benchouk S., " Prévalence du portage nasal de Staphylococcus aureus : son rôle dans l'infection du site opératoire ", Thèse de doctorat en sciences médicales. Tlemcen : Université Aboubeker Belkaid, (2013).
- [145] M Heurt, G. H, S. Guirot, et M. J. Rafaoni, "Nouveau Cahier de l'Infirmière.", Hygiène, Ed. Masson. Paris, (1958).
- [146] F. Barbut et D. Neyme, " Les difficultés d'interprétation des contrôles microbiologiques environnementaux ", Rev. Francoph. Lab., vol. 2006, no. 382, (2006), 27-32.
- [147] Merzougui, L., Barhoumi, T., Guizani, T., Barhoumi, H., Hannachi, H., Turki, E., et al., " Les infections nosocomiales en milieu de réanimation: incidence annuelle et aspects cliniques au Service de Réanimation Polyvalente, Kairouan, Tunisie, 2014", Pan Afr. Med. J., vol. 30, p. 143, juin 2018, doi: 10.11604/pamj.2018.30.143.13824.
- [148] A. Kramer, I. Schwebke, et G. Kampf, "How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review ", BMC Infect. Dis., vol. 6, (2006), 130.
- [149] S. S. Dastgheyb et M. Otto, " Staphylococcal adaptation to diverse physiologic niches: an overview of transcriptomic and phenotypic changes in different biological environments ", Future Microbiol., vol. 10, no. 12, (2015), 1981-1995.
- [150] C. Lays, "Regulatory RNAs of Staphylococcus aureus: role of RSAa in biofilm and capsule formation, expression of RNA in clinical samples ", (2012).
- [151] J. Kluytmans, A. van Belkum, et H. Verbrugh, " Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks ", Clin. Microbiol. Rev., vol. 10, no. 3, (1997), 505-520.
- [152] Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL., "The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections.", Lancet Infect Dis., vol. 5, no. 12, (2005), 751-762.
- [153] Muthukrishnan G, Lamers RP, Ellis A, Paramanandam V, Persaud AB, Tafur S, Parkinson CL, Cole AM." Longitudinal genetic analyses of Staphylococcus aureus nasal carriage dynamics in a diverse population.", BMC Infect. Dis., vol. 13, no. 1, (2013).

- [154] R. Kotpal, K. P. S., P. Bhalla, R. Dewan, et R. Kaur, " Incidence and Risk Factors of Nasal Carriage of Staphylococcus aureus in HIV-Infected Individuals in Comparison to HIV-Uninfected Individuals: A Case–Control Study ", J. Int. Assoc. Provid. AIDS Care JIAPAC, vol. 15, no. 2, (2016), 141-147.
- [155] Olsen K, Falch BM, Danielsen K, Johannessen M, Ericson Sollid JU, Thune I, Grimnes G, Jorde R, Simonsen GS, Furberg AS., " Staphylococcus aureus nasal carriage is associated with serum 25-hydroxyvitamin D levels, gender and smoking status. The Tromsø Staph and Skin Study ", Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol., vol. 31, no. 4, (2012), 465-473.
- [156] Cole AL, Schmidt-Owens M, Beavis AC, Chong CF, Tarwater PM, Schaus J, Deichen MG, Cole AM., " Cessation from Smoking Improves Innate Host Defense and Clearance of Experimentally Inoculated Nasal Staphylococcus aureus ", Infect. Immun., vol. 86, no. 4, (2018), e00912-177.
- [157] Anderson DJ, Kaye KS, Chen LF, Schmader KE, Choi Y, Sloane R, Sexton DJ., " Clinical and Financial Outcomes Due to Methicillin Resistant Staphylococcus aureus Surgical Site Infection: A Multi-Center Matched Outcomes Study ", PLOS ONE, vol. 4, no. 12,(2009), e8305.
- [158] Roghmann MC, Johnson JK, Stine OC, Lydecker AD, Ryan KA, Mitchell BD, Shuldiner AR., " Persistent Staphylococcus aureus colonization is not a strongly heritable trait in Amish families ", PloS One, vol. 6, no. 2, (2011), e17368.
- [159] A. Sakr, F. Brégeon, J.-L. Mège, J.-M. Rolain, et O. Blin, " Staphylococcus aureus Nasal Colonization: An Update on Mechanisms, Epidemiology, Risk Factors, and Subsequent Infections ", Front. Microbiol., vol. 9, (2018).
- [160] Harkins CP, Pichon B, Doumith M, Parkhill J, Westh H, Tomasz A, de Lencastre H, Bentley SD, Kearns AM, Holden MTG., " Methicillin-resistant Staphylococcus aureus emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice ", Genome Biol., vol. 18, no. 1, (2017), 130.
- [161] Bonten MJM, Laxminarayan R, Goossens H, et al. Antimicrobial resistance in 2024: global trends and clinical impact. *Lancet Infect Dis.* 2024;24(4):e101–e115. doi:10.1016/S1473-3099(24)00055-6
- [162] Tristan A, Bes M, Meugnier H, Lina G, Bozdogan B, Courvalin P, Reverdy ME, Enright MC, Vandenesch F, Etienne J., « Global Distribution of Pantone-Valentine Leukocidin–positive Methicillin-resistant Staphylococcus aureus, 2006 », Emerg. Infect. Dis., vol. 13, no. 4, (2007), 594-600.
- [163] M. Z. David et R. S. Daum, " Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic ", Clin. Microbiol. Rev., vol. 23, no. 3, (2010), 616-687.

- [164] Hallin M, Denis O, Deplano A, De Ryck R, Crèvecoeur S, Rottiers S, de Mendonça R, Struelens MJ., " Evolutionary relationships between sporadic and epidemic strains of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ", *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 14, no. 7, (2008), 659-669.
- [165] A. Mairi, A. Touati, et J.-P. Lavigne, " Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST80 Clone: A Systematic Review ", *Toxins*, vol. 12, no. 2, (2020), 119.
- [166] Antri K, Akkou M, Bouchiat C, Bes M, Martins-Simoes P, Dauwalder O, Tristan A, Meugnier H, Rasigade JP, Etienne J, Vandenesch F, Laurent F., " High levels of *Staphylococcus aureus* and MRSA carriage in healthy population of Algiers revealed by additional enrichment and multisite screening ", *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 37, no. 8, (2018), 1521-1529.
- [167] J. Xia, J. Gao, N. Kokudo, K. Hasegawa, et W. Tang, " Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* antibiotic resistance and virulence ", *Biosci. Trends*, vol. 7, no. 3, (2013), 113-121.
- [168] Kong EF, Johnson JK, Jabra-Rizk MA., " Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Enemy amidst Us ", *PLoS Pathog.*, vol. 12, no. 10, (2016), e1005837.
- [169] D. M. B. Sergio, T. H. Koh, L.-Y. Hsu, B. E. Ogden, A. L. H. Goh, et P. K. H. Chow, " Investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs used for research ", *J. Med. Microbiol.*, vol. 56, no. 8, (2007), 1107-1109.
- [170] W. Vanderhaeghen, T. Cerpentier, C. Adriaensen, J. Vicca, K. Hermans, et P. Butaye, "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows ", *Vet. Microbiol.*, vol. 144, no. 1-2, (2010), 166-171.
- [171] S. M. Puah, K. H. Chua, et J. A. M. A. Tan, " Virulence Factors and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolates in Ready-to-Eat Foods: Detection of *S. aureus* Contamination and a High Prevalence of Virulence Genes ", *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, vol. 13, no. 2, (2016), 199.
- [172] Smith TC, Male MJ, Harper AL, Kroeger JS, Tinkler GP, Moritz ED, Capuano AW, Herwaldt LA, Diekema DJ., " Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers ", *PloS One*, vol. 4, no. 1, (2009), e4258.
- [173] C. H. RHEE et G.-J. WOO, " Emergence and Characterization of Foodborne Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Korea ", *J. Food Prot.*, vol. 73, no. 12, (2010), 2285-2290.
- [174] H. Sax, B. Allegranzi, I. Uçkay, E. Larson, J. Boyce, et D. Pittet, " My five moments for hand hygiene: a user-centred design approach to understand, train, monitor and report hand hygiene ", *J. Hosp. Infect.*, vol. 67, no. 1, (2007), 9-21.

- [175] Stone SP, Fuller C, Savage J, Cookson B, Hayward A, Cooper B, Duckworth G, Michie S, Murray M, Jeanes A, Roberts J, Teare L, Charlett A., "Evaluation of the national Cleanyourhands campaign to reduce *Staphylococcus aureus* bacteraemia and *Clostridium difficile* infection in hospitals in England and Wales by improved hand hygiene: four year, prospective, ecological, interrupted time series study ", *BMJ*, vol. 344, (2012), e3005.
- [176] C. D. Salgado et B. M. Farr, " What proportion of hospital patients colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* are identified by clinical microbiological cultures? ", *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 27, no. 2, (2006), 116-121.
- [177] Robicsek A, Beaumont JL, Paule SM, Hacek DM, Thomson RB Jr, Kaul KL, King P, Peterson LR., " Universal surveillance for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 3 affiliated hospitals ", *Ann. Intern. Med.*, vol. 148, no. 6, (2008), 409-418.
- [178] D. Thapaliya, M. Taha, M. R. Dalman, J. Kadariya, et T. C. Smith, " Environmental contamination with *Staphylococcus aureus* at a large, Midwestern university campus ", *Sci. Total Environ.*, vol. 599-600, (2017), 1363-1368.
- [179] C. D. Jeffries, D. F. Holtman, et D. G. Guse, " Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids ", *J. Bacteriol.*, vol. 73, no. 4, (1957), 590-591.
- [180] S. Schubert et M. Kostrzewa, " MALDI-TOF MS in the Microbiology Laboratory: Current Trends ", *Curr. Issues Mol. Biol.*, vol. 23, no. 1, (2017).
- [181] C. Fenselau et P. A. Demirev, "Characterization of intact microorganisms by MALDI mass spectrometry ", *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 20, no. 4, (2001), 157-171.
- [182] S. Vaidyanathan, C. L. Winder, S. C. Wade, D. B. Kell, et R. Goodacre, " Sample preparation in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of whole bacterial cells and the detection of high mass (>20 kDa) proteins ", *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, vol. 16, no. 13, (2002) , 1276-1286.
- [183] T. L. Williams, D. Andrzejewski, J. O. Lay, et S. M. Musser, " Experimental factors affecting the quality and reproducibility of MALDI TOF mass spectra obtained from whole bacteria cells ", *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, vol. 14, no. 4,(2003), 342-351.
- [184] R. Giebel, C. Worden, S. M. Rust, G. T. Kleinheinz, M. Robbins, et T. R. Sandrin, " Microbial fingerprinting using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) applications and challenges ", *Adv. Appl. Microbiol.*, vol. 71, (2010) , 149-184.

- [185] P. Seng, J.-M. Rolain, P. E. Fournier, B. La Scola, M. Drancourt, et D. Raoult, "MALDI-TOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology", *Future Microbiol.*, vol. 5, no. 11, (2010), 1733-1754.
- [186] R. Courcol, "Quelles utilisations de la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF en microbiologie médicale ?", *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2009, no. 416, (2009), 61-64.
- [187] A. A. Khan, J. Farooq, M. Abid, et R. Zahra, "Assessment of inducible clindamycin resistance and Hyper Variable Region (HVR) of *mecA* gene in clinical staphylococci", *Pak. J. Med. Sci.*, vol. 36, no. 2, (2020), 136-140.
- [188] R. H. T. Nijhuis, N. M. van Maarseveen, E. J. van Hannen, A. A. van Zwet, et E. M. Mascini, "A Rapid and High-Throughput Screening Approach for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Based on the Combination of Two Different Real-Time PCR Assays", *J. Clin. Microbiol.*, vol. 52, no. 8, (2014), 2861-2867.
- [189] Li Y, Zhao R, Zhang X, Han Q, Qian X, Gu G, Shi J, Xu J., "Prevalence of Enterotoxin Genes and *spa* Genotypes of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a Tertiary Care Hospital in China", *J. Clin. Diagn. Res. JCDR*, vol. 9, no. 5, (2015), 11-14, mai.
- [190] G. Lina, A. Quaglia, M.-E. Reverdy, R. Leclercq, F. Vandenesch, et J. Etienne, "Distribution of Genes Encoding Resistance to Macrolides, Lincosamides, and Streptogramins among *Staphylococci*", *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, no. 5, (1999), 1062-1066.
- [191] A. Fessler, C. Scott, K. Kadlec, R. Ehricht, S. Monecke, et S. Schwarz, "Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis", *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 65, no. 4, (2010), 619-625.
- [192] Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, Lesin VM, Nikolenko SI, Pham S, Pribelski AD, Pyshkin AV, Sirotkin AV, Vyahhi N, Tesler G, Alekseyev MA, Pevzner PA., "SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing", *J. Comput. Biol. J. Comput. Mol. Cell Biol.*, vol. 19, no. 5, (2012), 455-477.
- [193] T. Seemann, "Prokka: rapid prokaryotic genome annotation", *Bioinformatics*, vol. 30, no. 14, (2014), 2068-2069.
- [194] Larsen MV, Cosentino S, Rasmussen S, Friis C, Hasman H, Marvig RL, Jelsbak L, Sicheritz-Pontén T, Ussery DW, Aarestrup FM, Lund O., "Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria", *J. Clin. Microbiol.*, vol. 50, no. 4, (2012), 1355-1361.

- [195] Bartels MD, Petersen A, Worning P, Nielsen JB, Lerner-Svensson H, Johansen HK, Andersen LP, Jarløv JO, Boye K, Larsen AR, Westh H., " Comparing whole-genome sequencing with Sanger sequencing for spa typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ", *J. Clin. Microbiol.*, vol. 52, no. 12, (2014), 4305-4308.
- [196] Z. Laced, D. Seydina, R. Laloui, K. Mebrouk, J.-M. Rolain, et L. Hadjadj, "Genetic Diversity and Virulence Profile of Methicillin and Inducible Clindamycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in Western Algeria ", *Antibiotics*, vol. 11, (2022), 1-11.
- [197] M. Aires-de-Sousa, " Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview ", *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 23, no. 6, (2017), 373-380.
- [198] S. Y. C. Tong, J. S. Davis, E. Eichenberger, T. L. Holland, et V. G. Fowler, " *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management ", *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 28, no. 3, (2015), 603-661.
- [199] K. Chua, F. Laurent, G. Coombs, M. L. Grayson, et B. P. Howden, " Antimicrobial resistance: Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)! A clinician's guide to community MRSA - its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy ", *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 52, no. 1, (2011), 99-114.
- [200] JVeloso JO, Lamaro-Cardoso J, Neves LS, Borges LFA, Pires CH, Lamaro L, Guerreiro TC, Ferreira EMA, André MCP., " Methicillin-resistant and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* colonizing patients and intensive care unit environment: virulence profile and genetic variability ", *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, vol. 127, no. 11, (2019), 717-726.
- [201] Speirs R, Benson RW, Schiffman G., " Microbiological monitoring of environment surfaces in a hospital in Fez city, Morocco ", vol. 7, (2016), 123-130.
- [202] S. Javidnia, M. Talebi, M. Saifi, M. Katouli, A. R. Lari, et M. R. Pourshafie, " Clonal dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in patients and the hospital environment ", *Int. J. Infect. Dis.*, vol. 17, no. 9, (2013), 691-695.
- [203] Bode LG, Kluytmans JA, Wertheim HF, Bogaers D, Vandenbroucke-Grauls CM, Roosendaal R, Troelstra A, Box AT, Voss A, van der Tweel I, van Belkum A, Verbrugh HA, Vos MC., « Preventing Surgical-Site Infections in Nasal Carriers of *Staphylococcus aureus* », *N Engl J Med.* vol. 362, no.1, (2010), 9-17.
- [204] Muñoz P, Hortal J, Giannella M, Barrio JM, Rodríguez-Créixems M, Pérez MJ, Rincón C, Bouza E., "Nasal carriage of *S. aureus* increases the risk of surgical site infection after major heart surgery ", *J. Hosp. Infect.*, vol. 68, no. 1, (2008), 25-31.

- [205] W. J. Munckhof, G. R. Nimmo, J. M. Schooneveldt, S. Schlebusch, A. J. Stephens, G. Williams, F. Huygens, P. Giffard, " Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*, including community-associated methicillin-resistant strains, in Queensland adults ", *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 15, no. 2, (2009), 149-155.
- [206] Kenner J, O'Connor T, Piantanida N, Fishbain J, Eberly B, Viscount H, Uyehara C, Hospenthal D., " Rates of Carriage of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in an Outpatient Population ", *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 24, no. 6, (2003), 439-444.
- [207] I. Skråmm, A. E. F. Moen, et G. Bukholm, " Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: frequency and molecular diversity in a randomly sampled Norwegian community population ", *APMIS*, vol. 119, no. 8, (2011), 522-528.
- [208] Price, L.B.; Stegger, M.; Hasman, H.; Aziz, M.; Larsen, J.; Andersen, P.S.; Pearson, T.; Waters, A.E.; Foster, J.T.; Schupp, J.; et al., "Transmission of *Staphylococcus aureus* between health-care workers, the environment, and patients in an intensive care unit: a longitudinal cohort study based on whole-genome sequencing ", *Lancet Infect. Dis.*, vol. 17, no. 2, (2017), 207-214.
- [209] Tashakori M, Mohseni Moghadam F, Ziasheikholeslami N, Jafarpour P, Behsoun M, Hadavi M, Gomreei M., " *Staphylococcus aureus* nasal carriage and patterns of antibiotic resistance in bacterial isolates from patients and staff in a dialysis center of southeast Iran ", *Iran. J. Microbiol.*, vol. 6, no. 2, (2014), 79-83.
- [210] L. Zemour, A. Belghitri, S. Arrad, A. Lahouel, S. Yahia, et N. Midoun, "Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline chez le personnel de l'EHU d'Oran, Algérie ", *Rev. DÉpidémiologie Santé Publique*, vol. 61, (2013), 335-336
- [211] Xu Z, Chen L, Chen X, Tang A, Huang D, Pan Q, Fang Z., " Molecular characterization of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* recovered from hospital personnel ", *J. Med. Microbiol.*, vol. 69, no. 12, (2022), 1332-1338.
- [212] De Boeck H, Vandendriessche S, Hallin M, Batoko B, Alworonga JP, Mapendo B, Van Geet C, Daully N, Denis O, Jacobs, " *Staphylococcus aureus* nasal carriage among healthcare workers in Kisangani, the Democratic Republic of the Congo ", *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 34, no. 8, (2015), 1567-1572.
- [213] Mkrtychyan HV, Xu Z, Yacoub M, Ter-Stepanyan MM, Karapetyan HD, Kearns AM, Cutler RR, Pichon B, Hambardzumyan AD., " Detection of diverse genotypes of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from hospital personnel and the environment in Armenia ", *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, vol. 6, no. 1, (2017), 19.

- [214] Y. Tabana, S. Dahham, B. Al-Hindi, A. Al-Akkad, et M. B. K. Ahamed, " Prevalence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) among Medical Staff in Three Syrian Provinces: Damascus, Daraa and Al-Swayda ", Middle East J. Sci. Res., vol. 23, (2015), 1756-1764.
- [215] S. Cesur et F. Çokça, " Nasal Carriage of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Among Hospital Staff and Outpatients ", Infect. Control Hosp. Epidemiol., vol. 25, no. 2, (2004), 169-171.
- [216] M. Dulon, C. Peters, A. Schablon, et A. Nienhaus, " MRSA carriage among healthcare workers in non-outbreak settings in Europe and the United States: a systematic review ", BMC Infect. Dis., vol. 14, no. 1, (2014), 363.
- [217] A. Zouari, " Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal carriage in tunisian school-aged child. ", Rev. Tunis. Infect., vol. 6, (2012), 225-231.
- [218] Ahmadi E, Khojasteh M, Mortazavi SM, Khan-Mohammadi F, Kazemnia A, Beheshtipour J, Raeeszadeh M., "Prevalence of and risk factors for methicillin-resistant Staphylococcus aureus nasal carriage in the West of Iran: a population-based cross-sectional study ", BMC Infect. Dis., vol. 19, (2019), 899.
- [219] Bogaert D, van Belkum A, Sluijter M, Luijendijk A, de Groot R, Rümke HC, Verbrugh HA, Hermans PW., " Colonisation by Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus in healthy children ", Lancet Lond. Engl., vol. 363, no. 9424, (2004), 1871-1872.
- [220] Scheuch M, Freiin von Rheinbaben S, Kabisch A, Engeßer J, Ahrendt S, Dabers T, Kohler C, Holtfreter S, Bröker BM, Stracke S., " Staphylococcus aureus colonization in hemodialysis patients: a prospective 25 months observational study ", BMC Nephrol., vol. 20, no. 1, (2019),153.
- [221] H. Can et T. Çelik, " Detection of enterotoxigenic and antimicrobial resistant S. aureus in Turkish cheeses ", Food Control, vol. 24, (2012), 100-103.
- [222] M. C. D. P. B. André, M. R. H. Campos, L. J. Borges, A. Kipnis, F. C. Pimenta, et Á. B. Serafini, " Comparison of Staphylococcus aureus isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following Smal digestion ", Food Control, vol. 2, no. 19, (2008) 200-207.
- [223] S. A. Rebiahi, D. E. Abdelouahid, M. Rahmoun, S. Abdelali, et H. Azzaoui, " Emergence of vancomycin-resistant Staphylococcus aureus identified in the Tlemcen university hospital (North-West Algeria) ", Med. Mal. Infect., vol. 41, no. 12, (2011), 646-651.
- [224] S. Bounar-Kechih, M. Taha Hamdi, H. Aggad, N. Meguenni, et Z. Cantekin, " Carriage Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Poultry and Cattle in Northern Algeria ", Vet. Med. Int., vol. 2018, (2018), 4636121.

- [225] A. Hachemi, S. Zenia, M. F. Denia, M. Guessoum, M. M. Hachemi, et K. Ait-Oudhia, "Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning ", *Vet. World*, vol. 12, no. 8, (2019), 1240-1250.
- [226] V. Pereira, C. Lopes, A. Castro, J. Silva, P. Gibbs, et P. Teixeira, "Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal ", *Food Microbiol.*, vol. 26, no. 3, (2009), 278-282.
- [227] Z. Ouchenane, A. Agabou, F. Smati, J.-M. Rolain, et D. Raoult, " Staphylococcal cassette chromosome mec characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated at the military hospital of Constantine/Algeria ", *Pathol. Biol.*, vol. 61, no. 6, (2013), 280-281.
- [228] Jemaa MB, Trigui M, Zribi W, Elleuch E, Abid A, Koubaa M, Mnif B, Ellouze Z, Ayedi K, Hammemi A, Jemaa MB, Zribi M, Keskes H., "L'ostéomyélite aiguë à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline d'origine communautaire chez l'enfant: à propos de 15 cas ", *Pan Afr. Med. J.*, vol. 39, (2021), 84.
- [229] Chenouf NS, Mama OM, Messaï CR, Ruiz-Ripa L, Fernández-Fernández R, Carvalho I, Zitouni A, Hakem A, Torres C., "Detection of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci and PVL/mecA genes in cefoxitin-susceptible *Staphylococcus aureus* (t044/ST80) from unpasteurized milk sold in stores in Djelfa, Algeria », *J. Dairy Sci.*, vol. 104, no. 3, (2021), 2684-2692.
- [230] S. Tamendjari, " Caractérisation des *Staphylococcus aureus* isolés de denrées alimentaires d'origine animale et leurs antibiorésistances « , Thèse de Doctorat , (2023), 252.
- [231] S. Tamendjari, F. A. Bouzebda, L. Chaib, H. Aggad, M. Ramdani, et Z. Bouzebda, " Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw cow and goat milk produced in the Tiaret and Souk Ahras areas of Algeria ", *Vet. World*, vol. 14, no. 7, (2021), 1929-1934.
- [232] Touatia, R., " *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. ", Thèse de Doctorat, Université Badjit Mokhtar – Annaba, Algérie, (2016), 105.
- [233] D. Jarajreh, A. Aqel, H. Alzoubi, et W. Al-Zereini, " Prevalence of inducible clindamycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the first study in Jordan ", *J. Infect. Dev. Ctries.*, vol. 11, no. 4, (2017), 350-354.
- [234] V. Deotale, D. Mendiratta, U. Raut, et P. Narang, " Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples ", *Indian J. Med. Microbiol.*, vol. 28, no. 2, p. (2010), 124-126.

- [235] P. C. Schreckenberger, E. Ilendo, et K. L. Ristow, " Incidence of Constitutive and Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococcus aureus and Coagulase-Negative Staphylococci in a Community and a Tertiary Care Hospital ", J. Clin. Microbiol., vol. 42, no. 6, (2004), 2777.
- [236] G. Yilmaz, K. Aydin, S. Iskender, R. Caylan, et I. Koksal, " Detection and prevalence of inducible clindamycin resistance in staphylococci ", J. Med. Microbiol., vol. 56, no. 3, (2007), 342-345.
- [237] Bottega A, Rodrigues Mde A, Carvalho FA, Wagner TF, Leal IA, Santos SO, Rampelotto RF, Hörner R., " Evaluation of constitutive and inducible resistance to clindamycin in clinical samples of Staphylococcus aureus from a tertiary hospital ", Rev. Soc. Bras. Med. Trop., vol. 47, (2014), 589-592.
- [238] Kumurya A.S., "Detection of Inducible Clindamycin Resistance among Staphylococcal Isolates from Different Clinical Specimens in Northwestern Nigeria.", Int. J. Prev. Med. Res. Vol. 1, No. 2, (2015), 35–39.
- [239] B. Sasirekha, M. S. Usha, J. A. Amruta, S. Ankit, N. Brinda, et R. Divya, " Incidence of constitutive and inducible clindamycin resistance among hospital-associated Staphylococcus aureus ", 3 Biotech, vol. 4, no. 1, (2014), 85-89.
- [240] Mairi A, Touati A, Pantel A, Zenati K, Martinez AY, Dunyach-Remy C, Sotto A, Lavigne JP., "Distribution of Toxinogenic Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus from Different Ecological Niches in Algeria ", Toxins, vol. 11, no. 9, (2019).
- [241] Goudarzi M, Kobayashi N, Dadashi M, Pantůček R, Nasiri MJ, Fazeli M, Pouriran R, Goudarzi H, Miri M, Amirpour A, Seyedjavadi SS., " Prevalence, Genetic Diversity, and Temporary Shifts of Inducible Clindamycin Resistance Staphylococcus aureus Clones in Tehran, Iran: A Molecular–Epidemiological Analysis From 2013 to 2018 ", Front. Microbiol., vol. 11, (2020), 663.
- [242] R. M. Kishk, M. M. Anani, N. A. Nemr, N. M. Soliman, et M. M. Fouad, " Inducible clindamycin resistance in clinical isolates of staphylococcus aureus in Suez Canal University Hospital, Ismailia, Egypt ", J. Infect. Dev. Ctries., vol. 14, no. 11, (2020).
- [243] Hodille E, Badiou C, Bouveyron C, Bes M, Tristan A, Vandenesch F, Lina G, Dumitrescu O., " Clindamycin suppresses virulence expression in inducible clindamycin-resistant Staphylococcus aureus strains ", Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., vol. 17, (2018), 38.
- [244] A. Singh-Moodley, W. Strasheim, R. Mogokotleng, H. Ismail, et O. Perovic, " Unconventional SCCmec types and low prevalence of the Panton-Valentine Leukocidin exotoxin in South African blood culture Staphylococcus aureus surveillance isolates, 2013-2016 ", PLOS ONE, vol. 14, no. 11, (2019), e0225726.

- [245] Monecke S, Coombs G, Shore AC, Coleman DC, Akpaka P, Borg M, Chow H, Ip M, Jatzwauk L, Jonas D, Kadlec K, Kearns A, Laurent F, O'Brien FG, Pearson J, Ruppelt A, Schwarz S, Scicluna E, Slickers P, Tan HL, Weber S, Ehricht R." A Field Guide to Pandemic, Epidemic and Sporadic Clones of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ", PLOS ONE, vol. 6, no.4, (2011), e17936.
- [246] H. Humphreys et D. C. Coleman, " Contribution of whole-genome sequencing to understanding of the epidemiology and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ", J. Hosp. Infect., vol. 102, no. 2, (2019), 189- 199.
- [247] Kashif A, McClure JA, Lakhundi S, Pham M, Chen S, Conly JM, Zhang K., "Staphylococcus aureus ST398 Virulence Is Associated With Factors Carried on Prophage ϕ Sa3 ", Front. Microbiol., vol. 10, (2019).
- [248] Larsen J, Petersen A, Sørnum M, Stegger M, van Alphen L, Valentiner-Branth P, Knudsen LK, Larsen LS, Feingold B, Price LB, Andersen PS, Larsen AR, Skov RL., "Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 is an increasing cause of disease in people with no livestock contact in Denmark, 1999 to 2011 ", Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull., vol. 20, no. 37, (2015).
- [249] Price LB, Stegger M, Hasman H, Aziz M, Larsen J, Andersen PS, Pearson T, Waters AE, Foster JT, Schupp J, Gillece J, Driebe E, Liu CM, Springer B, Zdovc I, Battisti A, Franco A, Zmudzki J, Schwarz S, Butaye P, Jouy E, Pomba C, Porrero MC, Ruimy R, Smith TC, Robinson DA, Weese JS, Arriola CS, Yu F, Laurent F, Keim P, Skov R, Aarestrup FM., "Staphylococcus aureus CC398: Host Adaptation and Emergence of Methicillin Resistance in Livestock ", mBio, vol. 3, no. 1, (2012), e00305-11.
- [250] M. Carrel, M. Goto, M. L. Schweizer, M. Z. David, D. Livorsi, et E. N. Perencevich, " Diffusion of clindamycin-resistant and erythromycin-resistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), potential ST398, in United States Veterans Health Administration Hospitals, 2003-2014 ", Antimicrob. Resist. Infect. Control, vol. 6, (2017), 55.
- [251] Ramdani-Bougouessa N, Bes M, Meugnier H, Forey F, Reverdy ME, Lina G, Vandenesch F, Tazir M, Etienne J., " 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., vol. 50, no. 3, (2006), 1083- 1085.
- [252] Fluit AC, Carpaij N, Majoor EA, Weinstein RA, Aroutcheva A, Rice TW, Bonten MJ, Willems RJ., " Comparison of an ST80 MRSA strain from the USA with European ST80 strains ", J. Antimicrob. Chemother., vol. 70, no. 3, (2015), 664- 669.

- [253] Stegger M, Wirth T, Andersen PS, Skov RL, De Grassi A, Simões PM, Tristan A, Petersen A, Aziz M, Kiil K, Cirković I, Udo EE, del Campo R, Vuopio-Varkila J, Ahmad N, Tokajian S, Peters G, Schaumburg F, Olsson-Liljequist B, Givskov M, Driebe EE, Vigh HE, Shittu A, Ramdani-Bougessa N, Rasigade JP, Price LB, Vandenesch F, Larsen AR, Laurent F., "Origin and Evolution of European Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ", *mBio*, vol. 5, no. 5, (2014), e01044-14.
- [254] Aung KT, Hsu LY, Koh TH, Hapuarachchi HC, Chau ML, Gutiérrez RA, Ng LC., " Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in retail food in Singapore ", *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, vol. 6, no. 1, (2017), 94.
- [255] N. Xiao, J. Yang, N. Duan, B. Lu, et L. Wang, "Community-associated *Staphylococcus aureus* PVL+ ST22 predominates in skin and soft tissue infections in Beijing, China ", *Infect. Drug Resist.*, vol. 12, (2019), 2495- 2503.
- [256] Ullah N, Nasir S, Ishaq Z, Anwer F, Raza T, Rahman M, Alshammari A, Alharbi M, Bae T, Rahman A, Ali A., " Comparative Genomic Analysis of a Pantón–Valentine Leukocidin-Positive ST22 Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Pakistan ", *Antibiotics*, vol. 11, no. 4, (2022).
- [257] Chang Q, Abuelaish I, Biber A, Jaber H, Callendrello A, Andam CP, Regev-Yochay G, Hanage WP., " Genomic epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST22 widespread in communities of the Gaza Strip, 2009", *Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull.*, vol. 23, no. 34, (2018).
- [258] Toleman MS, Watkins ER, Williams T, Blane B, Sadler B, Harrison EM, Coll F, Parkhill J, Nazareth B, Brown NM, Peacock SJ., " Investigation of a Cluster of Sequence Type 22 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Transmission in a Community Setting », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 65, no. 12, (2017), 2069- 2077.
- [259] Baldan R, Testa F, Lorè NI, Bragonzi A, Cichero P, Ossi C, Biancardi A, Nizzero P, Moro M, Cirillo DM., " Factors Contributing to Epidemic MRSA Clones Replacement in a Hospital Setting ", *PLOS ONE*, vol. 7, no. 8, (2012), e43153.
- [260] Fernandez S, de Vedia L, Lopez Furst MJ, Gardella N, Di Gregorio S, Ganaha MC, Prieto S, Carbone E, Lista N, Rotrying F, Stryjewski ME, Mollerach M., "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST30-SCCmec IVc clone as the major cause of community-acquired invasive infections in Argentina ", *Infect. Genet. Evol.*, vol. 14, (2013), 401-405.
- [261] Rasigade JP, Leclère A, Alla F, Tessier A, Bes M, Lechiche C, Vernet-Garnier V, Laouénan C, Vandenesch F, Leport C., " *Staphylococcus aureus* CC30 Lineage and Absence of *sed,j,r*-Harboring Plasmid Predict Embolism in Infective Endocarditis ", *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 8, no. 8, (2018). 187.
- [262] Di Gregorio S, Haim MS, Vielma Vallenilla J, Cohen V, Rago L, Gulone L, Aanensen DM, Argimón S, Mollerach M. , "Genomic Epidemiology of CC30 Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains from Argentina Reveals Four Major Clades with Distinctive Genetic Features ", *mSphere*, vol. 6, no. 2, (2021),

e01297-20.

[263] Haim MS, Zaheer R, Bharat A, Di Gregorio S, Di Conza J, Galanternik L, Lubovich S, Golding GR, Graham MR, Van Domselaar G, Cardona ST, Mollerach M., "Comparative genomics of ST5 and ST30 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequential isolates recovered from paediatric patients with cystic fibrosis ", *Microb. Genomics*, vol. 7, no. 3,(2021), 000510.

[264] Le G, Jiang R, Zhang H, Wang L, Li L, Gao W, Zhang H, Pei Y, Wei X, Dong H, Qin L., "Molecular Characteristics of *Staphylococcus aureus* From Food Samples and Food Poisoning Outbreaks in Shijiazhuang, China ", *Front. Microbiol.*, vol. 12, no. 22, (2021), 652276.

[265] T. Goolam Mahomed, M. M. Kock, R. Masekela, E. Hoosien, et M. M. Ehlers, "Genetic relatedness of *Staphylococcus aureus* isolates obtained from cystic fibrosis patients at a tertiary academic hospital in Pretoria, South Africa ", *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, (2018).

[266] Donkor ES, Jamrozy D, Mills RO, Dankwah T, Amoo PK, Egyir B, Badoe EV, Twasam J, Bentley SD., " A genomic infection control study for *Staphylococcus aureus* in two Ghanaian hospitals.", *Drug Resist.*, vol. 11, (2018), 1757- 1765.

[267] Jian Y, Zhao L, Zhao N, Lv HY, Liu Y, He L, Liu Q, Li M., " Increasing prevalence of hypervirulent ST5 methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* subtype poses a serious clinical threat ", *Emerg. Microbes Infect.*, vol. 10, no.1, (2021), 109-122.

[268] Kavanagh N, Ryan EJ, Widaa A, Sexton G, Fennell J, O'Rourke S, Cahill KC, Kearney CJ, O'Brien FJ, Kerrigan SW., "Staphylococcal Osteomyelitis: Disease Progression, Treatment Challenges, and Future Directions », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 31, no. 2, (2018), e00084-17.

[269] Niemann S, Bertling A, Brodde MF, Fender AC, Van de Vyver H, Hussain M, Holzinger D, Reinhardt D, Peters G, Heilmann C, Löffler B, Kehrel BE. "Panton-Valentine Leukocidin associated with *S. aureus* osteomyelitis activates platelets via neutrophil secretion products". *Sci Rep*. Vol. 8, no. 1, (2018), 185.

[270] Zhao H, Xu S, Yang H, He C, Xu X, Hu F, Shu W, Gong F, Zhang C, Liu Q., " Molecular Typing and Variations in Amount of *tst* Gene Expression of TSST-1-Producing Clinical *Staphylococcus aureus* Isolates ", *Front. Microbiol.*, vol. 10, (2019).

[271] Ciupescu LM, Auvray F, Nicorescu IM, Meheut T, Ciupescu V, Lardeux AL, Tanasuica R, Hennekinne JA., "Characterization of *Staphylococcus aureus* strains and evidence for the involvement of non-classical enterotoxin genes in food poisoning outbreaks ", *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 365, no. 13, (2018).

[272] Schneewind O, Missiakas D. Genetic manipulation of *Staphylococcus aureus*. *Curr Protoc Microbiol*.vol.6,no.32, (2014).

[273] Rooijackers SH, Ruyken M, Roos A, Daha MR, Presanis JS, Sim RB, van Wamel WJ, van Kessel KP, van Strijp JA., " Immune evasion by a staphylococcal complement inhibitor that acts on C3 convertases ", *Nat. Immunol.*, vol. 6, no. 9, (2005).

[274] van Wamel WJ, Rooijackers SH, Ruyken M, van Kessel KP, van Strijp JA., " The Innate Immune Modulators Staphylococcal Complement Inhibitor and Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus aureus* Are Located on β -Hemolysin-Converting Bacteriophages ", *J. Bacteriol.*, vol. 188, no. 4, (2006), 1310-1315.

[275] Wysocka M, Monteiro T, de Pina C, Gonçalves D, de Pina S, Ludgero-Correia A, Moreno J, Zamudio R, Almebairik N, Gray LJ, Pareek M, Jenkins DR, Aires-de-Sousa M, De Lencastre H, Belezza S, Araujo II, Conceição T, Oggioni MR., " Whole-genome analysis uncovers loss of blaZ associated to carriage isolates belonging to MRSA clone ST5-VI in Cape Verde ", *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, vol. 26, (2021), 77-83.

Annexe A

Tableau S1. Plan de dépôt de la matrice MALDI TOF.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Annexe B

d. Introduction de la cible MALDI TOF dans le spectromètre de masse Microflex LT

- Commencer par démarrer l'ordinateur associé au spectromètre utilisé puis le logiciel FlexControl.
- Appuyer sur le bouton vert en façade.
- Soulever la trappe d'insertion de la cible MALDI (Figure 2.4).
- Déposer la cible à analyser puis fermer la trappe d'insertion.
- Appuyer sur le bouton vert pour introduire la cible dans le spectromètre.
- Patienter le temps que le vide soit atteint (vérifier sur FlexControl : onglet « statuts/details/vaccum »).

e. Lancement de l'acquisition MALDI-TOF-MS

- S'assurer que le logiciel d'acquisition FlexControl est ouvert puis lancer le programme MALDI Biotyper Compass (identification des bactéries).
- Cliquer sur la feuille blanche « New classification ».
- Scanner la cible utiliser ou entrer manuellement le code (en ajoutant «101 » devant) correspondant et appuyer sur entrée.
- Cliquer sur « créer sur séquence d'ID ».
- Cliquer sur « Réinitialiser la cible ».
- Sélectionner les spots à analyser sur le plan de plaque par colonnes (clic gauche sur la souris).
- Cliquer droit sur la souris sur la sélection puis sur « Add analytes », les spots sélectionnés s'afficheront en blanc ; cliquer sur « ajouter échantillons ».
- Copier la colonne des positions dans la colonne « ID optional ».
- Donner un nom au projet dans la case « commentaire » sous la forme suivante :
 - Date (AAMMJJ),n°série plaque MALDI (SNXXXX)_nom de l'opérateur_nom du projet
 - Ex :220725_SN00681_LACEB_PATIENTS
- Choisir la base de données correspondant au projet en cliquant sur l'icône « configuration » en haut à droite dans MBT Compass puis aller dans classification et choisir la base de données appropriée à la série d'échantillons.
- Cliquer sur « démarrer l'acquisition » en bas à droite.
- Afficher le logiciel d'acquisition « FlexControl » pour visualiser l'acquisition des spectres comme indiqué dans la figure S1.

f. Visualisation des résultats :

- Les résultats s'affichent avec un code couleur (Tableau S.1) et pour chaque échantillon un tableau de résultats d'identification est téléchargé. (Tableau S2)
- Cliquer sur « Rapport sequence ».

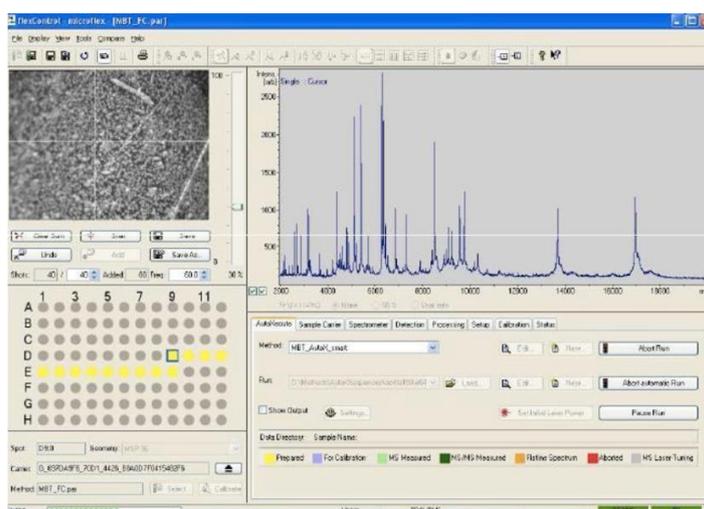


Figure S1 : Acquisition des résultats en temps réel (spectres).

Tableau S2 : Score et codes couleurs des résultats MALDI TOF.

Score	0 – 1.7	1.7 - 1.9	1.9 - 3
Couleur	Rouge	Jaune	Vert
Identification bactérienne	Aucune bactérie	Genre	Espèce bactérienne

Tableau S3. Valeurs scores et identifiants NCBI des souches identifiées par MALDI TOF.

Nom du projet: 210711-1247-1014353

Date/Heure de création du projet: 2021-07-11T13:08:43.487

Analyte 3

Nom de l'échantillon: A3
Description de l'échantillon: A3
ID de l'échantillon: A3
Date/Heure de création de l'échantillon: 2021-07-11T13:08:43.732
Type de l'échantillon: Échantillon standard
Méthode de classification: MALDI Biotyper MSP Identification Standard Method 1.1
Méthode de prétraitement: BioTyper Preprocessing Standard Method 1.2
Méthode ACQ: DA\Methods\flexControlMethods\MBT_FC.par
Horodatage ACQ: 2021-07-11T13:16:10.318
Méthode AutoXecute: MBT_AutoX_smart
Bibliothèque de MSP utilisée: BDAL / contains 8468 MSPs / dec78ccc-c113-4ede-b02e-392d0cde98c1 / 2020-06-18T11:23:05.030, IVD / contains 8326 MSPs / f2611a22-b086-4e96-9b7f-9330b32b17c / 2020-06-18T11:23:05.264, Calitronomics / CSLR 7369 / 80413318-bd22-4f90-9797-61a73d4d9c-28 / 2021-06-01T10:45:13.161, Timone / 3f2492a1-3259-4868-958c-13d45b5ac6b1 / 2021-06-30T15:21:07.314



Nom du projet: 210711-1247-1014353

Date/Heure de création du projet: 2021-07-11T13:08:43.487

Tableau des résultats pour analyte 3 -- suite de la page précédente			
Classement (Qualité)	Profil de référence	Score Valeur	Identifiant NCBI
10 (++)	Staphylococcus aureus CSURP5458	2.01	131944301

Classement (Qualité)	Profil de référence	Score Valeur	Identifiant NCBI
1 (+++)	Staphylococcus aureus CSURP2357	2.01	131944301
2 (+++)	Staphylococcus aureus CSURP3138	2.04	131944301
3 (+++)	Staphylococcus aureus CSURP5001	2.03	131944301
4 (+++)	Staphylococcus aureus CSURP4869	2.03	131944301
5 (+++)	Staphylococcus aureus CSURP4983	2.01	131944301
6 (+++)	Staphylococcus aureus CSURQ3210	2.01	131944301
7 (+++)	Staphylococcus aureus CSURP3108	2.01	131944301
8 (+++)	Staphylococcus aureus CSURQ5331	2.01	131944301
9 (+++)	Staphylococcus aureus CSURQ3211	2.01	131944301

Tableau des résultats pour analyte 3--suite page suivante

g. Validation des résultats

L'exploitation des résultats ne peut être faite que si T⁺ et T⁻ sont valides :

- T⁺ doit correspondre avec *E. coli* avec un score >2.0 (spotvert)
- T⁻ doit correspondre à un score sans identification <1.7 (spot rouge)
- L'identification d'un germe est validée lorsque le score est supérieur à 2.0 pour les 2 dépôts (même germe retrouvé).

Annexe C

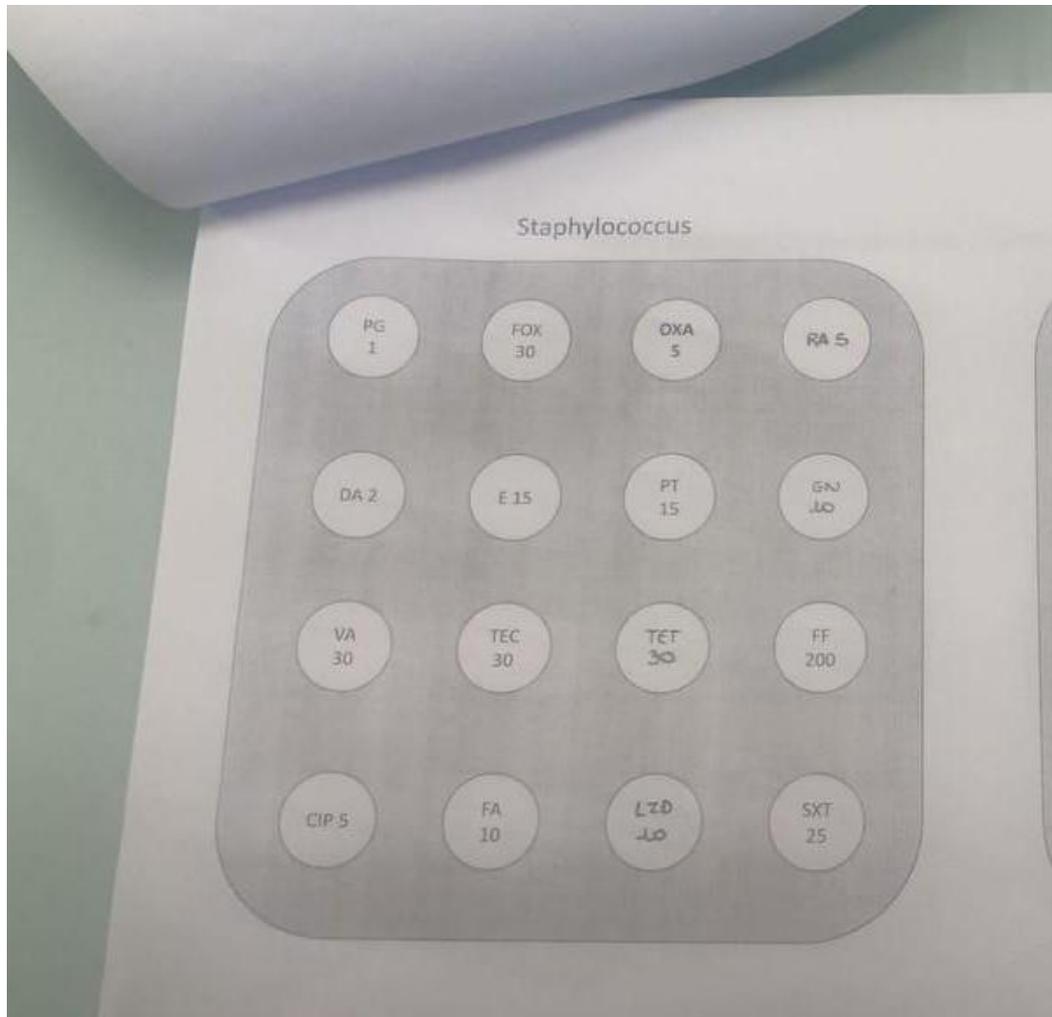


Figure S2. Panel de dépôt des disques d'antibiotiques.

Annexe D

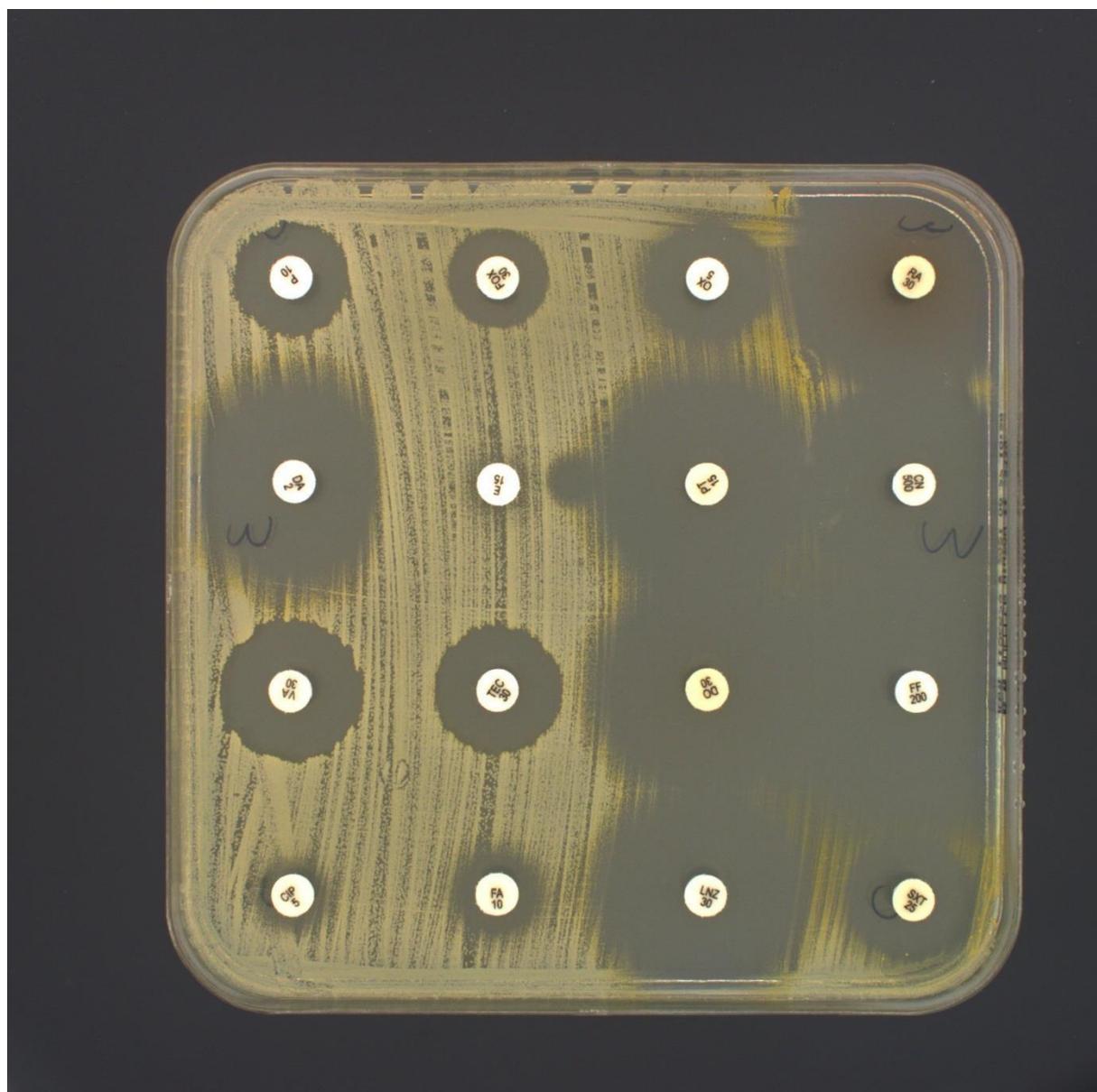


Figure S3. Visualisation de l'antibiogramme par le Scan® 4000.

Annexe E

Tableau S4. Aperçu du fichier Excel contenant les mesures et l'interprétation des diamètres d'inhibition de l'antibiogramme

3-090723	Staphylocoques				Staphylocoques MES DONNEE	R.A.S.	09/07/2021	2:21 PM
	P PénicillineG	16,9 R	26 / 26			Auto		
	FOX Cefoxitine	14,8 R	22 / 22			Auto		
	OXA Oxacilline	20,1 S	20 / 20			Auto		
	RA Rifampicine	40,9 S	24 / 29			Auto		
	DA Clindamycir	27,4 S	19 / 22			Auto		
	ERY Erythromy	11,3 R	18 / 21			Auto		
	PT Pristinamyc	35,6 S	19 / 22			Auto		
	CN Gentamicine	14,6 R	20 / 20			Auto		
	VA Vancomycir	20,7 S	17 / 17			Auto		
	TEC Teicoplanin	18,6 S	17 / 17			Auto		
	DO Doxycycline	36,3 S	12 / 16			Auto		
	FF Fosfomycine	20,2 R	23 / 23			Auto		
	CIP Ciprofloxac	14,9 R	21 / 21			Auto		
	FA Acidefusidic	18,5 R	24 / 24			Auto		
	LNZ Linézolide	25 S	24 / 24			Auto		
	SXT Triméthopr	20,9 S	14 / 17			Auto		

Annexe F

Tableau S5. Gènes de résistance identifiés par la plateforme du « Center for genomic epidemiology ».

Acquired AMR gene hits Hide

Resistance gene	Identity	Alignment length/gene length	Position in reference	Contig or depth	Position in contig	Phenotype	PMID	Accession no.	Notes
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	unpublished	MAJU01000071	Class A
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	unpublished	FKPS01000007	Class A
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	26230489	NZ_JVAT01000021	Class A
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	26230489	NZ_JJUA01000057	Class A
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	26230489	NZ_JVLY01000044	Class A
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	26230489	NZ_JVRB01000003	Class A
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	unpublished	JIFD01000012	Class A
blaZ	99.88%	846 /	1...846	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	449...1294	['amoxicillin', 'ampicillin', 'piperacillin', 'penicillin']	unpublished	JIFU01000008	Class A
erm(T)	98.91%	735 /	1...735	NODE_19_length_6538_cov_59.573234	1155...1889	['lincomycin', 'clindamycin', 'erythromycin', 'quinupristin', 'pristinamycin ia', 'virginiamycins']	16189118	AY894138	23S rRNA methylase; Azithromycin, Spiramycin resistance in Staphylococcus sp. and Streptococcus sp.; If inducible phenotype, patterns of spiramycin, lincomycin and clindamycin resistance may vary

Annexe G

Tableau S6. Gènes de virulence identifiés par la plateforme du « Center for genomic epidemiology ».

VirulenceFinder-2.0 Server - Results

Organism(s): *S. aureus*

Hostimm genes for <i>S. aureus</i>						
Virulence factor	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Protein function	Accession number
scn	100	351 / 351	NODE_9_length_110631_cov_173.247312	21907..22257	staphylococcal complement inhibitor	AP009351.1

Toxin genes for <i>S. aureus</i>						
Virulence factor	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Protein function	Accession number
hlgA	99.89	930 / 930	NODE_7_length_125758_cov_72.437925	72377..73306	gamma-hemolysin chain II precursor	CP003808.1
hlgB	100	977 / 977	NODE_7_length_125758_cov_72.437925	69884..70860	gamma-hemolysin component B precursor	CP003808.1
hlgC	100	948 / 948	NODE_7_length_125758_cov_72.437925	70862..71809	gamma-hemolysin component C	CP003808.1

Exoenzyme genes for <i>S. aureus</i>						
Virulence factor	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Protein function	Accession number
aur	100	1530 / 1530	NODE_4_length_284439_cov_83.790973	158940..160469	aureolysin	CP003808.1

Annexe H

Tableau S7. Caractéristiques des souches séquencées.

Report

	SA_75R_fasta	168_fasta	11M_fasta	315R_fasta	SM1_fasta	335R_fasta	275R_fasta	245R_fasta	9F_fasta	8PSR_fasta	8B_fasta	82_fasta	6P_fasta	5PSR_fasta	5I_fasta	595R_fasta	55R_fasta	27D_fasta	19F_fasta	135R_fasta	13N_fasta	12J_fasta
# contigs (>= 0 bp)	145	99	26	15	22	38	41	41	35	32	25	51	22	22	20	144	44	51	19	26	20	19
# contigs (>= 1000 bp)	26	99	26	14	22	38	41	41	35	32	25	51	22	22	20	144	44	51	19	26	20	19
Total length (>= 0 bp)	2832192	2667810	2783954	2741014	2686199	2792752	2829262	2829548	2715901	2746056	2759436	2684128	2765865	2739574	2681317	2748691	2782394	2849502	2683918	2832977	2684650	2684850
Total length (>= 1000 bp)	2783954	2667810	2783954	2740047	2686199	2792752	2829262	2829548	2715901	2746056	2759436	2684128	2765865	2739574	2681317	2748691	2782394	2849502	2683918	2832977	2684650	2684850
# contigs	34	99	26	15	22	38	41	41	35	32	25	51	22	22	20	144	44	51	19	26	20	19
Largest contig	724267	148872	724267	1280720	468997	351969	259443	266960	411457	319470	586688	267843	571607	546995	543946	134049	276738	394397	516057	601233	468997	468997
Total length	2788689	2667810	2783954	2741014	2686199	2792752	2829262	2829548	2715901	2746056	2759436	2684128	2765865	2739574	2681317	2748691	2782394	2849502	2683918	2832977	2684650	2684850
GC (%)	32.75	32.84	32.74	32.69	32.79	32.72	32.70	32.70	32.83	32.81	32.74	32.83	32.76	32.69	32.82	32.93	32.75	32.74	32.79	32.74	32.78	32.79
N50	203012	52068	203012	596332	284439	238675	127343	131188	197470	178697	314848	87968	437276	275708	340832	41383	146328	141516	340671	382023	340671	382950
N90	56008	14867	56008	108394	68498	40995	50418	45275	38978	49669	58831	38714	77924	60453	49673	9294	39200	28853	71488	110265	68498	68498
auN	338537.9	56370.3	339112.6	786828.8	276854.8	220769.0	141660.4	153832.0	207684.0	178599.0	327316.1	117564.1	354930.1	301227.3	334894.6	47323.7	140441.4	164851.4	322811.0	369898.5	304017.0	330262.1
L50	3	18	3	2	4	5	8	7	5	6	4	9	3	4	4	22	7	7	4	3	4	4
L90	14	54	14	5	12	18	21	20	18	17	10	28	10	11	9	78	24	25	10	9	10	9
# N's per 100 kbp	2.15	7.87	2.16	6.71	0.00	21.48	31.81	28.27	7.73	5.10	1.45	4.10	5.31	9.13	0.37	5.46	4.96	0.35	0.37	1.06	0.37	3.72

All statistics are based on contigs of size >= 500 bp, unless otherwise noted (e.g., "# contigs (>= 0 bp)" and "Total length (>= 0 bp)" include all contigs).