

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Sâad DAHLEB de Blida
Faculté Des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master II en Biologie

OPTION : Microbiologie - Bactériologie

Thème :

*Portage nasal asymptomatique des Staphylococcus aureus
chez l'homme et leurs profils de résistance aux antibiotiques*

Soutenu le : 01 octobre 2013.

Présenté par :

M^{lle} GOULI Fatiha

Devant le jury composé de :

Mme : MEKLAT A.	Maître de Conférences B (USDB)	Présidente
Mme : KESKAS S.	Maître Assistante B (USDB)	Examinatrice
Mme : DEBIB A.	Maître Assistante A	Examinatrice
Dr : MENOUEI M. N.	Maître de Conférences A (USDB)	Promoteur
Dr : LASSAS K.	Médecin Spécialiste (EPH de Boufarik)	Co-promotrice

2012-2013

Remerciements

Ma profonde gratitude est exprimée à mon promoteur **Dr : MENOUERI M.N.** maître de conférence catégorie A à l'université de Blida pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté de m'encadrer et d'avoir su me guider avec rigueur, patience et bienveillance afin de bien réaliser ce travail. Votre esprit critique des résultats, vos orientations et vos conseils qui m'ont permis d'évoluer dans ma vision de recherche.

Que vous trouvez ici l'expression de mon plus profond respect et mes sincères reconnaissances.

Toute ma gratitude est exprimée aussi à ma Co-promotrice **Dr : LAÏSA K.** médecin spécialiste en microbiologie au niveau de l'EPH de Boufarik pour m'avoir accompagné sans cesse dès le choix du sujet jusqu'au bout de travail. Vos orientations, votre gentillesse, sympathie et surtout disponibilité qui m'ont poussé pour bien compléter ce travail.

Que vous trouvez ici l'expression de tous mes remerciements et reconnaissances

Mes sincères remerciements sont adressés aux membres du jury :

Mme : MEKLAT A. (MCB) à l'USDB qui m'a fait l'honneur de présider ce jury

Mme : KESKAS S. (MAB) à l'USDB et **Mme : DEBIB A. (MAA)** à l'USDB pour le temps que vous m'avez accordé pour l'examinations de ce travail afin de le bien valoriser.

Je dois remercier **Mr : DJEMAL** Directeur de l'EPH de Boufarik de m'avoir facilité l'accès dans son laboratoire ce qui m'a permis de réaliser ce travail

Je dois remercier aussi les chefs des différents services de l'EPH qui m'ont facilité l'accès dans leurs services pour recueillir les prélèvements, ainsi que tout le personnel de laboratoire et tous les infirmiers qui m'ont aidé durant toute la période de stage.

Je remercie l'équipe de laboratoire **IDEAL** de Blida qui m'ont facilité l'obtention des milieux de culture afin de réaliser ce travail.

Un grand merci à tout le corps enseignant qui m'a guidé durant toutes mes années d'étude.

Tous mes remerciements sont adressés à tous les personnes qui m'ont permis de passer mon écouvillon dans leurs narines, c'est par la collaboration de ces volontaires que j'ai pu compléter ce travail.

Enfin, je remercie toute personne dont le nom n'est pas mentionné ici, mais par son aide par un geste, une idée, une prière, une souris que j'ai pu réaliser ce travail.

A toutes et à tous, grand merci

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents : qui ont tout fait pour me garantir les conditions favorables durant tout mon cycle d'étude. C'est par vos incessantes prières, sacrifices, amour, tendresse et confiance que j'ai pu terminer ce travail.

Que Dieu m'aide de vous satisfaire d'avantage par ce modeste travail, et que vous me garde auprès de moi.

Ma sœur et mon amie Khadidja : qui a été toujours mon exemple de courage, tes encouragements incessants qui m'ont poussé pour terminer ce travail.

Ma grande sœur Fatima : ta compréhension et ton soutien moral sont à la base de ce travail.

Mes chers frères Omar et Mohamed : votre soutien et compréhension qui m'ont poussé toujours vers l'avant.

Que Dieu va garantir une vie pleine d'amour, de succès, de joie et de bonheur pour tous mes frères et sœurs.

Mes grands-parents décédés : paix à vos âmes.

Mon grand-père : vos prières et votre confiance à moi qui m'ont permis l'accomplissement de ce travail. Que Dieu vous me garde

Toute ma grande famille : oncles et tantes, cousins et cousines.

Toutes mes amis : de l'enfance à l'université surtout :

Assa, Fatima, Hayet, Merieme, Hiba, Yasmine et Asma.

Tout ce qui me reconnaît, j'aime et m'aime.

Résumé

Les *Staphylococcus aureus* sont des bactéries pathogènes, à l'origine des infections diverses, allant d'une simple infection cutanée à des infections systémiques sévères, dont le portage nasal de *S. aureus* joue un rôle important dans la survenue de ces infections.

L'objectif de notre travail consiste à déterminer la fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* dans une population humaine, prise d'une manière aléatoire, ne souffrant d'aucune pathologie infectieuse.

Au total, 264 prélèvements nasaux ont été effectués pour un examen bactériologique, 41 (15.5%) souches de *S. aureus* ont été isolées, dont 19 (46.3%) se sont avérées résistantes à la méticilline (SARM).

L'analyse globale de la résistance des *S. aureus* isolés aux antibiotiques a montré que la résistance est de 54.8% aux érythromycines, 41.9% aux clindamycines, 38.7% aux tétracyclines, 22.6% aux ciprofloxacines, 16.1% aux acides fusidiques, 12.9% aux sulfaméthoxazoles, 9.7% aux aminosides et 6.5% aux rifampines.

Les souches résistantes à la méticilline (SARM) présentent les phénotypes de résistance les plus importants par rapport aux souches sensibles à la méticilline (SASM).

Aucune souche de nos isolats n'a été résistante vis-à-vis des pristinamycines, des chloramphénicolés et des glycopeptides.

Mots clés : portage nasal, population humaine, aléatoire, pathologie infectieuse, *S. aureus*, résistance aux antibiotiques.

Summary

Staphylococcus aureus are pathogenic bacteria, at the origin of the various infections, going of a simple cutaneous infection to severe systemic infections, whose nasal carriage of *S. aureus* has a significant role in occurred of these infections.

The objective of our work consists in determining the frequency of asymptomatic nasal carriage of *S. aureus* in a human population taken randomly, don't suffering from any infectious pathology.

On the whole of 264 nasal sample realized were carried out for bacteriological examination, 41 (15.5%) strains of *S. aureus* were insulated, of which 19 (46.3%) are proven resistant to the méthicillin (MRSA).

The total analysis of the resistance of *S. aureus* related to antibiotics showed that resistance is 54.8% to the érythromycins, 41.9% to the clindamycins, 38.7% to the tétracyclines, 22.6% to the ciprofloxacins, 16.1% to the fusidic acid, 12.9% to the sulfaméthoxazols, 9.7% to the aminosids and 4.5% to the rifampicins.

The strains resistant to the méthicillin (MRSA) present the most significant phenotypes of resistance compared to the strains sensitive to the méthicillin (MSSA).

No strain of our isolates was resistant with respect to the pristinamycins, of chloramphenicols and the glycoptides.

Key words: nasal carriage, human population, randomly, infectious pathology, *S. aureus*, resistance to antibiotics

ملخص

المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* هي بكتيريا ضارة، مسببة لأمراض مختلفة، والتي تذهب من تعففات جلدية بسيطة إلى تعففات خطيرة في جميع أجزاء الجسم، بحيث أن الحمل على مستوى الأنف للمكورات العنقودية الذهبية يلعب دورا هاما في حدوث مثل هذه التعففات.

إن الهدف من دراستنا يتمثل في تحديد معدل الحاملين بدون أعراض للمكورات العنقودية الذهبية على مستوى الأنف، لدى مجموعة أشخاص، تم اختيارهم عشوائيا، لا يعانون من أي مرض معد في المجموع، 264 عينة للمسح الأنفي تم إجراؤها من أجل اختبار بكتيري، 41 (15.5%) سلالة من المكورات العنقودية الذهبية تم عزلها، بحيث 19 سلالة تبين أنها مقاومة للمتيسيلين.

التحليل الإجمالي لقابلية المكورات العنقودية الذهبية المعزولة للمضادات الحيوية أظهر أن نسبة المقاومة هي 54.8% بالنسبة للإريثروميسين (erythromycin)، 41.9% للكلينداميسين (clindamycin)، 38.7% للتيتراسيكلين (tétracycline)، 22.5% للسيبروفلوكساسين (ciprofloxacin)، 16.1% لحمض الفوسفوريك (acide fusidique)، 12.9% للمولفاميتوزازول (sulphaméthoxazole)، 12.9% للأمينوزيد (aminoside) و 6.5% للريفامبيسين (rifampicine).

إن النمط الظاهري لمقاومة المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمتيسيلين هو جد هام مقارنة مع نمط مقاومة السلالات الحساسة للمتيسيلين.

ولا سلالة من بين السلالات المعزولة كانت مقاومة للبريسينيسين (pristinamycine)، للكلورامفينيكول (chloramphénicol) و للجليكوبيبتيد (glycopeptide).

الكلمات المفتاحية: الحمل على مستوى الأنف، مجموعة أشخاص، عشوائيا، المكورات العنقودية الذهبية، المقاومة للمضادات الحيوية.

Liste des abréviations

ADN : Acide **D**ésoxyribonucléique

ARN: Acide **R**ibonucléique

ATCC: American Type Culture Collection

BHIB: **B**rain **H**eart **I**nfusion **B**roth

BORSA : **B**orderline **O**xacilline **R**ésistante *S.aureus*

°C: Degré Celsius

Clf: Clumping factor

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute

cm : centimètre

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CO₂: Dioxyde de Carbone

EDTA : Acide Ethylene Diamine Tetra Acétique

EPH: Etablissement Public Hospitalier

Fc: Fragment constant

GC : Guanine Cytosine

I : Intermédiaire

IgG: Immunoglobuline G

G: Grossissement

GISA: Glycopeptide Intermediate *S.aureus*

g/L: gramme par Litre

GN : Gélose Nutritive

GSC : Gélose au Sang Cuit

GSF : Gélose au Sang Frais

h : heure

HBD: Human Beta-Defensin

HIV: Human Immunodeficiency Virus

H₂O: Monoxyde de dihydrogène

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

HNP: Human Neutrophil Peptide

McF: Mac Farland

µg : microgramme

ml : millilitre

mm : millimètre

MODSA : **M**odified penicillin-binding protein *S. aureus*

N° : Numéro d'enregistrement

NaCl : Chlorure de sodium

OMS : **O**rganisation **M**ondiale de la Santé

pH : potentiel d'Hydrogène

PVL : Leucocidine de Pantan-Valentine

R : Résistant

RM : Rouge de Méthyle

S : Sensible

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

SASM : *Staphylococcus aureus* Sensible à la Méricilline

TSST: Toxic Shock Syndrom Toxin

PLP : Protéines Liant les Pénicillines

VISA : Vancomycin Intermediate *S. aureus*

VP : Voges Proskauer

VRSA : Vancomycin Résistant *S. aureus*

% : Pourcentage

+ : Positif

- : Négatif

≥ : supérieur ou égale

≤ : inférieur ou égale

Liste des figures

	Page
Figure 1 : Anatomie des voies respiratoires	2
Figure 2 : Anatomie de la narine	4
Figure 3 : Répartition de <i>S. aureus</i> dans le corps humain	8
Figure 4 : Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i>	10
Figure 5 : Sites d'action des différentes classes d'antibiotique	15
Figure 6 : Ensemencement de prélèvement sur Chapman	23
Figure 7 : Aspect des cultures après ensemencement A : culture dorée B : culture blanche	24
Figure 8 : Aspect de culture sur gélose nutritive	24
Figure 9 : Aspect de culture sur Chapman	25
Figure 10 : Aspect de culture su GSF	25
Figure 11 : Aspect de culture su GSC	25
Figure 12 : <i>S. aureus</i> coloré au Gram G*100	26
Figure 13 : Test de catalase	27
Figure 14 : Test de coagulase	28
Figure 15 : Test de DNase	29
Figure 16 : (A) Ensemencement de l'inoculum sur Mueller-Hinton, (B) application des disques d'antibiotiques	31
Figure 17 : Résultats de l'antibiogramme	31
Figure 18 : Ensemencement par spot pour le screening test	33
Figure 19 : Résultat du screening test	34
Figure 20 : Schéma d'identification de <i>S. aureus</i> et recherche de leur résistance aux antibiotiques	35
Figure 21 : Répartition des patients en fonction du sexe	36
Figure 22 : Répartition des patients en fonction de l'âge	37
Figure 23 : Répartition des patients interne et externes	38
Figure 24 : Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i>	39
Figure 25 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de <i>S. aureus</i> en fonction du sexe	39

Figure 26 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de <i>S. aureus</i> selon l'âge ...	40
Figure 27 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de <i>S. aureus</i> en fonction des patients internes et externes	41
Figure 28 : Profil de résistance des <i>S. aureus</i> isolées aux antibiotiques	43
Figure 29 : Fréquence des souches résistantes à la méticilline (SARM)	45
Figure 30 : Fréquence de portage nasal asymptomatique des SARM en fonction du sexe	46
Figure 31 : Fréquence de portage nasal des SARM selon l'âge	46
Figure 32 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de SARM en fonction des patients internes et externes	47
Figure 33 : Profil de résistance des souches de SARM aux antibiotiques	49
Figure 34 : Profil de résistance des souches de SARM aux antibiotiques	51

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Liste des tableaux

	Page
Tableau I : Taxonomie de <i>S. aureus</i> selon « bergey's manual of systematic bacteriology, second édition (2001) »	6
Tableau II : Caractères biochimiques distinctifs des principales espèces du genre <i>Staphylococcus</i> isolées chez l'homme	7
Tableau III : Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistance	17
Tableau IV: Principaux mécanismes de résistance aux MLS et Phénotypes correspondants chez les Staphylocoques	18
Tableau V : recherche de la résistance à l'oxacilline et interprétation des tests (méthodes de diffusion des disques)	32
Tableau VI : Répartition des patients en fonction du sexe	36
Tableau VII : Répartition des patients en fonction de l'âge	37
Tableau VIII: Répartition des patients internes et externes	37
Tableau IX : Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i>	38
Tableau X : Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i> en fonction de sexe	39
Tableau XI : Fréquence de portage nasal asymptomatique de <i>S. aureus</i> selon l'âge ...	40
Tableau XII : Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i> en fonction des patients internes et externes	41
Tableau XIII : Profil de résistance des <i>S. aureus</i> isolés aux antibiotiques	42
Tableau XIV : Phénotype de résistance des <i>S. aureus</i> isolés aux antibiotiques.....	44
Tableau XV : Fréquence de portage nasal des SARM selon l'âge	46
Tableau XVI : Profil de résistance des souches de SARM aux antibiotiques	48
Tableau XVII : Profil de résistance des souches de SASM aux antibiotiques	50
Tableau XVIII : verreries et appareillages	(Annexe 1)
Tableau XIX : Milieux de culture, réactifs et solution.....	(Annexe 1)
Tableau XX : valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus aureus</i>	(Annexe 5)

Glossaire

Abcès : collection de pus, constituée à partir d'un foyer d'infection local ou de pus des tissus normaux.

Anthrax : agglomérat de plusieurs furoncles formant de gros nodules inflammatoires pleins de pus. Cette affection est dû à une infection aigue de gaine des poils et de la glande sébacée adjacente par le staphylocoque doré ; il siège le plus souvent à la nuque, au visage, au dos et la fesse.

Antibiothérapie : C'est le traitement utilisant des antibiotiques pour soigner les patients atteints d'une maladie infectieuse bactérienne.

Arthrite : toute infection inflammatoire, aigue ou chronique qui atteint les articulations.

Bactéricides : substances capables de tuer les bactéries

Colonisation : implantation de la bactérie sur le revêtement cutané-muqueux sans provoquer de dommage pour l'hôte. Type d'intensité des bactéries des flores commensales.

Commensale : se dit d'une espèce qui vit au contact d'un autre en profitant des résidus de sa nourriture, mais sans la nuire.

Embole : objet entraîné par la circulation du sang et obstruant un vaisseau. C'est le plus souvent un caillot de sang, parfois un corps étranger (ex : bulles d'air ou de graisse, amas de cellules ou de bactéries, parasites).

Endocardite : inflammation de l'endocarde (membrane qui tapisse le cœur intérieurement) d'origine infectieuse ou non infectieuse.

Exfoliation : destruction ou élimination sous forme de lamelles, des parties mortes superficielles d'un tissu, en parti de l'épiderme.

Fibrinogène : est une protéine fabriquée par le foie et qui intervient dans la coagulation pour former, avec les plaquettes et les facteurs de la coagulation, le caillot sanguin. Il intervient aussi dans les inflammations. Il est le précurseur soluble de la fibrine

Fibronectine : molécule associant une protéine à un sucre (glycoprotéine) dont le poids moléculaire est élevé et présente dans le plasma (partie liquidienne du sang), elle permet l'adhésion cellulaire à des substances qui leurs sont étrangères.

Furoncle : Infection aiguë d'un follicule pilosébacé, due au staphylocoque doré aboutissant à la nécrose du follicule pileux et de ses annexes.

Impétigo : infection bactérienne et contagieuse de la peau, fréquente chez l'enfant, caractérisée par des pustules puis des croûtes épaisses, couleur miel.

Infection : pénétration dans un organisme d'un agent étranger (bactérie, virus, champignon, parasite) capable de s'y multiplier et d'y introduire des lésions pathologiques (sinon, il s'agit d'un portage).

Infection nosocomiale : une infection est dite nosocomiale ou hospitalière, si elle est absente lors de l'admission du patient à l'hôpital et qu'elle se développe 48 heures après l'admission.

Lysosyme : protéine enzymatique, contenue dans la salive, le mucus nasal, les larmes et le sérum, qui hydrolyse les glycoprotéines des membranes bactériennes et permet la lyse de certaines bactéries.

Manuportage : mode de transmission par le contact avec les mains.

Mésophiles : (mésos : médian) préférant une température moyenne comprise entre 20 et 40°C (optimum 30-37°C)

Opsonisation : (opsonine) protéine qui se fixe à la surface des microbes et facilite la phagocytose.

Ostéomyélite : maladie infectieuse grave chronique ou aiguë du tissu osseux. Le microbe responsable est le staphylocoque doré, il contamine l'os par la voie sanguine à partir d'une infection locale (plaie infectée, abcès, fractures ouvertes). L'ostéomyélite atteint surtout les os longs (tibia, fémur).

Otite : inflammation des cavités de l'oreille moyenne, de la muqueuse qui les tapisse et du tympan.

Panaris : infection aiguë d'un doigt de la main ou, plus rarement, d'un orteil. C'est une affection fréquente, découlant de l'inoculation dans le doigt d'un germe, le plus souvent un staphylocoque doré par une écharde, une piqûre ou une plaie, même minime.

Pneumopathie : toute affection du poumon.

Portage : colonisation par bactéries pathogènes retrouvées plus ou moins transitoirement au niveau des flores commensales.

Porteur sain : individu infecté par une bactérie ou un virus pathogène, et susceptible de transmettre l'agent infectieux. Si le porteur ne se manifeste pas de signe de maladie, on parle de porteur sain.

Psychrophiles : (psychro : froid) la température optimale de croissance est située aux environs de 10°C, mais qui peuvent se développer à 0°C.

Pyogène : susceptible d'entraîner une suppuration.

Réservoir : hôte habituel d'un agent infectieux (virus, bactérie, parasite) à partir duquel une infection peut se transmettre à l'homme ou à des animaux domestiques.

Scarlatine staphylococcique : caractérisée par une fièvre et un érythème scarlatiniforme typique en 48 heures suivi d'une fine desquamation, sans choc ni défaillance multi-viscérale.

Septicémie : état infectieux généralisé, due à la dissémination d'un germe pathogène dans tout l'organisme par l'intermédiaire du sang.

Sinusite : inflammation des sinus de la face.

Suppuration : formation de pus, c'est la réaction normale de défense d'un organisme sain en face de l'agression microbienne.

Syndrome d'exfoliation généralisé : (syndrome de la peau ébouillantée) c'est une dermatose due à une toxine libérée par le staphylocoque doré, touche surtout les enfants avant l'âge de 2 ans. L'enfant ressemble à un grand brûlé qui aurait été ébouillanté.

Thrombophlébites : (thrombus : caillot, phlébite : inflammation) inflammation d'une veine avec formation d'un caillot dans celle-ci.

Table des Matières

Page

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Introduction 1

Chapitre 01 : Revue Bibliographique

I. Voies respiratoires	2
I.1. Anatomie des voies respiratoires	2
I.1.1. Flores commensales	2
I.1.2. Flore normale du système respiratoire	3
I.2. Le portage asymptomatique de bactéries pathogènes	4
I.2.1. Le portage nasal de <i>Staphylococcus aureus</i>	4
I.2.1.1. Comment <i>S. aureus</i> atteint et persiste au niveau des fosses nasales ?	5
I.2.1.2. Epidémiologie	6
II. <i>Staphylococcus aureus</i>	6
II.1. Les Staphylocoques, notion d'histoire et de taxonomie	7
II.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	7
II.2.1. Habitat	8
II.2.2. Caractères bactériologique	8
II.2.2.1. Morphologie	9
II.2.2.2. Caractères cultureux	9
II.2.2.3. Caractères biochimiques	9
II.2.3. Facteurs de virulence	10
II.2.3.1. Enzymes	11
II.2.3.2. Toxines	12
II.2.3.3. Antigènes somatiques	13
II.2.4. Pouvoir pathogène	13

II.2.4.1 Mode de transmission	13
II.2.4.2. Infections liées à <i>Staphylococcus aureus</i>	14
II.2.5. Les antibiotiques actifs sur <i>S. aureus</i>	14
II.2.5.1. Définition d'antibiotique	14
II.2.5.2. Classification des antibiotiques	15
II.2.5.3. Les antibiotiques actifs sur <i>S. aureus</i>	19
II.2.6. Traitement et prévention	19
II.2.6.1. Traitement	20
II.2.6.2. Prévention	

Chapitre 02 : Matériel et Méthodes 21

I. Matériel.....	21
I.1. Matériel non biologique	21
I.2. Matériel biologique	22
II. Méthodes	22
II.1. Prélèvement	22
II.1.1. Procédure de prélèvement.....	22
II.1.2. Fiche d'inclusion.....	23
II.2. Ensemencement	24
II.3. Identification de l'espèce	24
II.3.1. Réisolement et examen macroscopique des colonies	26
II.3.2. Examen microscopique	27
II.3.3. Identification biochimique	27
II.3.3.1. Test de catalase	27
II.3.3.2. Test de coagulase	29
II.3.3.3. Test de DNase	29
II.4. Conservation	30
II.5. Etude de la sensibilité des <i>S. aureus</i> isolés aux antibiotiques	30
II.5.1. Antibiogramme	32
II.5.2. Recherche de la résistance à l'oxacilline	34
II.5.3. Contrôle de qualité de l'antibiogramme	

Chapitre 03 : Résultats et Discussion 36

I. Résultats	36
I.1. Répartition des patients en fonction du sexe	36

I.2. Répartition des patients en fonction de l'âge	37
I.3. Répartition des patients internes et externes	38
I.4. Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i>	39
I.4.1. Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i> en fonction du sexe..	40
I.4.2. Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i> selon l'âge	
I.4.3. Fréquence de portage nasal asymptomatique des <i>S. aureus</i> en fonction des patients internes et externes	41 42
I.4.4. Etude de la résistance des souches de <i>S. aureus</i> isolées aux antibiotiques.....	44
I.4.5. Phénotype de résistance des souches de <i>S. aureus</i> isolées aux antibiotiques	45
I.5. Fréquence des souches résistantes à la méticilline (SARM)	45
I.5.1. Fréquence de portage nasal asymptomatique de SARM en fonction du sexe.....	46
I.5.2. Fréquence de portage nasal asymptomatique de SARM selon l'âge	
I.5.3. Fréquence de portage nasal asymptomatique de SARM en fonction des patients internes et externes	47 48
I.5.4. Etude de la résistance des souches de SARM aux antibiotiques	50
I.6. Etude de la résistance des souches de SARM aux antibiotiques	52
II. Discussion	55
Conclusion et Recommandations	56

Annexes

Références Bibliographiques

PDF GENERATED BY
WWW.NULANCE.COM

Introduction

Introduction

Le *Staphylococcus aureus* est à la fois une bactérie commensale et un pathogène important des mammifères. C'est un des principaux agents pathogènes pour l'homme, il colonise un quart à un tiers de la population en bonne santé (**Tattevin, 2011**).

Les fosses nasales antérieures constituent, avec les zones humides de la peau (aisselles, poignets, périnée), le site réservoir essentiel de *S. aureus*, et également une source potentielle de diffusion dans la population.

Ubiquiste et saprophyte, *S. aureus* constitue l'une des espèces les plus couramment isolées en milieu hospitalier. Cette bactérie est impliquée dans la survenue d'infections nosocomiales et représente le deuxième agent pathogène responsable de ce type d'infections après *E. coli*, mais son isolement en milieu communautaire est également de plus en plus fréquent (**Vincenot et al., 2008**).

Plusieurs facteurs expliquent la fréquence et la gravité des infections à *S. aureus* : le caractère ubiquitaire de la bactérie, la multirésistance de certaines souches aux antibiotiques, notamment en milieu hospitalier, ainsi qu'une diminution des défenses immunitaires des patients hospitalisés, mais la pathogénicité de *S. aureus* est encore reliée à l'expression des facteurs de virulence.

De plus, le portage nasal de *S. aureus* joue un rôle très important dans la survenue des infections staphylococciques, selon **Mammari (2010)** les patients ayant un portage nasal de *S. aureus* ont un risque accru d'infections à ce germe. D'autre part, selon **Demondion et al. (2012)**, les patients porteurs nasals de *S. aureus* présentent un risque important de 3 à 6 fois que les non porteurs, d'acquies une infection nosocomiale due à cette bactérie et un risque 3 fois plus important d'acquies une infection de site opératoire selon **Berthelot (2011)**.

Notre travail consiste à rechercher les souches de *S. aureus* isolées à partir des cavités nasales des patients, pris au hasard, ne souffrant d'aucune pathologie infectieuse, venant pour une consultation interne ou externe, au niveau de l'établissement public hospitalier de Boufarik dans le but de :

- Déterminer la fréquence de portage nasale asymptomatique de *S. aureus* dans une population humaine et son relation avec les facteurs de sexe, de l'âge et de l'hospitalisation ;
- Etudier la sensibilité des souches de *S. aureus* isolées aux antibiotiques ;
- Enfin, déterminer la fréquence des souches résistantes à la métilcilline.

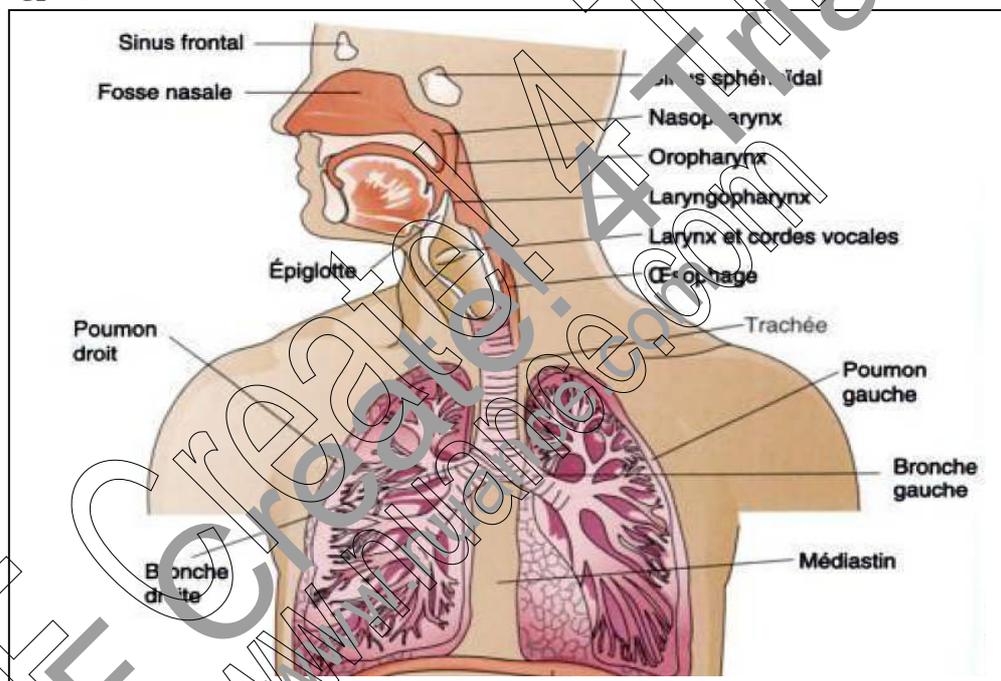
Chapitre 1
Etude monographique

I. Voies respiratoires

I.1. Anatomie des voies respiratoires

L'appareil respiratoire est composé des voies respiratoires supérieures et des voies respiratoires inférieures (Figure 1)

- **Les voies respiratoires supérieures** : comprennent le nez, les sinus et les voies nasales, le pharynx, les amygdales, le larynx et la trachée (**Longpré, 2006**).
- **Les voies respiratoires inférieures** : sont constituées des poumons, qui renferment les structures bronchiques et alvéolaires nécessaires aux échanges gazeux (**Longpré, 2006**).



Au niveau du système respiratoire, une flore normale colonise la muqueuse des cavités nasales et du pharynx. Par contre les voies respiratoires inférieures sont normalement presque stériles (**Hugard, 2003 ; Gehanno et al., 1995**).

I.1.1. Flore commensale

La flore commensale est composée par les germes résidant sur les surfaces cutanées et muqueuses du sujet sain. Un grand nombre de bactérie, de protozoaire et de champignon constituent cette flore (**Meyer et al., 2004**).

La flore commensale joue un rôle de barrière contre les autres microbes, elle vit en contact étroit avec l'homme sans lui nuire (**Géraçfas et Rioufol, 2006**).

Selon **Leyral et Vierling (2007)**, on distingue deux types de flores :

- a- **Les flores commensales permanentes** : dites flores résidentes qui ont tendance à se rétablir chaque fois qu'elles sont perturbées ;
- b- **Les flores transitoires** : constituées de bactéries peu nombreuses, non pathogènes en présence de la flore résidente, mais qui peuvent proliférer et devenir pathogènes lorsque la flore résidente est perturbée.

La composition de ces flores est variable en fonction des sites anatomiques, de leurs propriétés physicochimiques et des facteurs exogènes qui peuvent modifier ces dernières (race, profession, grossesse...) (Gehanno et al., 1995).

I.1.2. Flore normale du système respiratoire

La flore normale du système respiratoire colonise la muqueuse des cavités nasales et du pharynx. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* et les diphtéroïdes sont majoritaires dans le nez et le nasopharynx, alors que les streptocoques du groupe *viridans* sont plus nombreux dans la cavité buccale et l'oropharynx (Hugard, 2003).

I.2. Le portage asymptomatique de bactéries pathogènes

Chez un petit nombre d'individus, il est possible d'isoler des bactéries pathogènes, en général en petit nombre au sein d'une flore commensale, sans qu'aucun signe d'infection ne puisse être observé. On parle de **porteurs sains** (Leyral et Vierling, 2007).

Ce portage est soit transitoire et coïncide avec une période de convalescence, soit permanent, les germes ayant trouvé un équilibre avec les défenses de l'organisme et donc leur place dans l'écologie locale. On peut distinguer selon (Leyral et Vierling, 2007) :

- Le portage de *Salmonella* au niveau des voies biliaires ;
- Le portage nasal de *Staphylococcus aureus*, assez fréquent (30 à 40%) ;
- Le portage pharyngé de méningocoque (5 à 10% de la population) ;
- Le portage de *Streptococcus pyogenes* et de pneumocoque au niveau de la gorge

I.2.1. Le portage nasal de *Staphylococcus aureus*

I.2.1.1. Comment *S. aureus* atteint et persiste au niveau des fosses nasales ?

Selon Wertheim et al. (2005), le *S. aureus* peut survivre des mois sur tout type de surface, il peut atteindre les fosses nasales soit par les mains, soit directement par diffusion aérienne.

S. aureus colonise le vestibule des fosses nasales car dépourvu de cils et contient peu de mucus (figure 2) (Wertheim et al., 2005).

Il semble que le clumping factor (ClfB) soit fortement impliqué dans la colonisation nasale, en facilitant l'attachement de *S. aureus* aux squames (Mulcahy et al., 2012).

De plus selon Sivaraman et al. (2010) et Wertheim et al. (2005), les sécrétions nasales qui ont un rôle dans la défense immunitaire de l'hôte comportent des Immunoglobulines A et G, des lysozymes, de lactoferrine et des peptides antimicrobiens codant pour des défensines. Il existe une dérégulation de cette réponse immunitaire chez les personnes porteuses nasales de *S. aureus*, notant une augmentation dans les concentrations d'alpha-défensines (HNP1, 2,3) et de bêta2-défensine (HBD2), dont les études in vitro montrent qu'ils ne sont pas bactéricides sur *S. aureus* suggérant que la réponse de l'hôte est inefficace et insuffisante pour prévenir ou éradiquer le portage.

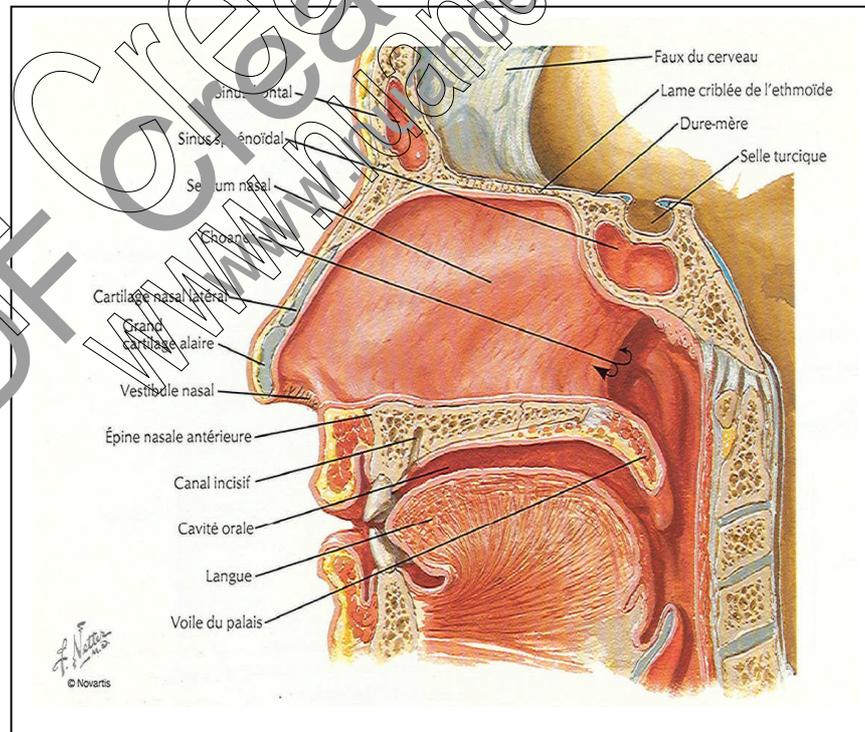


Figure 2 : Anatomie de la narine (Netter, 1997).

I.2.1.2. Epidémiologie

La prévalence du portage nasal de *S. aureus* dans la population générale est de 25 à 30% (Grundmann et al., 2006).

Des prélèvements répétés chez le même malade, pendant plusieurs mois, permettent de distinguer trois types de portages différents (Bertholom, 2009).

Approximativement 20 % des individus sont des **porteurs permanents** (colonisés par la même souche sur une période de plusieurs mois, voire plusieurs années). 30 % de la population sont des **porteurs intermittents** (porteurs de différentes souches de *S. aureus* avec une fréquence variable). Enfin, 50 % de la population n'est jamais porteuse (Botelho-Nevers, 2013 ; Demondion et al., 2012; Frank et al., 2010 ; Bertholom, 2009).

Le portage permanent est retrouvé aussi bien chez les enfants que chez les adultes. Il est souvent plus important chez les enfants, avec un pic vers l'âge de 10 ans (Bertholom, 2009).

Cependant, le portage nasal de *S. aureus* varie d'un pays à un autre, dont plusieurs facteurs vont intervenir.

- Aux Etats unis, d'après Aswani et Sillia (2011), la prévalence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* dans la population générale est estimée de 28.6%, dont 1.5% sont des souches résistantes à la méthicilline.
- D'autre part selon Sivarajah et al. (2010), le portage est de 10% chez les adultes en Turquie, près de 26% en Malaisie, 35% en Hollande, 14% au Nigéria, 16% en Inde, et (< 10%) en Indonésie.

✚ facteur de risque

Parmi les facteurs favorisant le portage on peut citer :

Des facteurs ethniques (surtout caucasiens), le sexe (Hommes > Femmes), l'âge (sujet jeune), l'état immunitaire (patients avec HIV ou diabétiques), l'hospitalisation et l'état général du patient (comme l'obésité, hémodialyse) (Botelho-Nevers, 2013 ; Van Belkum et al., 2009).

II. *Staphylococcus aureus*

II.1. Les Staphylocoques, notions d'histoire et de taxonomie

Les staphylocoques ont été découverts dans un pus par Pasteur en 1880. En 1883, Ogston a créé le nom de « **Staphylocoque** » pour décrire ces grains (**kokkos**) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (**staphylos**). En 1884, Rosenbach a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées (Avril et al., 2000).

La classification des staphylocoques a subi de très nombreux remaniements (Fleurette, 1990).

Selon la première édition de « Bergey's manual of systematic bacteriology » en 1984, le genre *Staphylococcus* fait partie de la famille des *Micrococcaceae*, avec les genres *Micrococcus*, *Planococcus* et *Stomatococcus* qui diffèrent par leur GC % (Avril et al., 2000 ; Fleurette, 1990).

Sur la base d'analyse des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S, les bactéries à **Gram positif et à faible GC %** comme les staphylocoques et les bactéries du genre *Planococcus* n'appartiennent plus à la famille des *Micrococcaceae* (Bes et Brun, 2002).

Actuellement, selon la deuxième édition de « Bergey's manual of systematic bacteriology » en 2001, le genre *Staphylococcus* est classé dans la famille des *Staphylococcaceae*, avec 37 espèces et sous espèces dont l'espèce type est *S. aureus* (Tableau 1) (Whitman, 2009).

Tableau 1. Taxonomie de *S. aureus* selon « Bergey's manual of systematic bacteriology, seconde édition (2001) » (Whitman, 2009).

Domaine : <i>Bacteria</i>
Phylum XIII : <i>Firmicutes</i>
Classe I : <i>Bacilli</i>
Ordre I : <i>Bacillales</i>
Famille VIII : <i>Staphylococcaceae</i>
Génère I : <i>Staphylococcus</i>
Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i>

Les espèces du genre *Staphylococcus* sont classées en deux groupes selon qu'elles produisent ou non une coagulase libre active sur le plasma oxalaté de lapin (Denis et al., 2011).

On distingue les staphylocoques à coagulase positive, représentés par une espèce, *S. aureus*, et les staphylocoques à coagulase négative, représentés par de multiples espèces comme *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, ou *S. haemolyticus* (Ferry et Timssit, 2009).

Les principaux caractères distinctifs de ces espèces sont mentionnés dans le tableau II.

Tableau II : Caractères biochimiques distinctifs des principales espèces du genre *Staphylococcus* isolées chez l'homme (Denis et al., 2011).

	<i>S.aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	Autres staphylocoques
Coagulase	+	-	-	-	-
Clumping factor	+	-	-	-	-
Fermentation :					
Glucose	+	+	+	+	+
Mannitol	+	-	+	+	V
Xylitol	-	-	-	+	-
Phosphatase	+	-	-	-	V
Dnase	+	-	-	-	V
Novobiocine (5 µg)*	S	S	S	R	V
<p>V : variable ; + : ≥ 90% de souches positives ; - : ≥ 90% de souches négatives ; * : le disque de novobiocine est déposé sur milieu mueller-Hinton ensemencé comme un antibiogramme, S : sensible (diamètre ≥ 16mm), R : résistant (diamètre < 16mm)</p>					

II.2. *Staphylococcus aureus*

II.2.1. Habitat

Staphylococcus aureus est une bactérie ubiquitaire, très répandue dans la nature et faisant partie de la flore habituelle (Lucet, 2009).

Bien que de multiples sites puissent être colonisés chez les êtres humains, les fosses nasales antérieures restent le site privilégié pour les *S. aureus* (Wertheim et al., 2005 ; Decker, 2008).

D'autres réservoirs existent comme la peau, le périnée, les creux axillaires, le pharynx, le tractus gastro-intestinal et le vagin (figure 3) (Wertheim et al., 2005).

Éliminée dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (Avril et al., 2000).

Les souches des Staphylocoques peuvent persister plusieurs semaines dans un environnement sec et hostile (Ferry et Timsit, 2009).

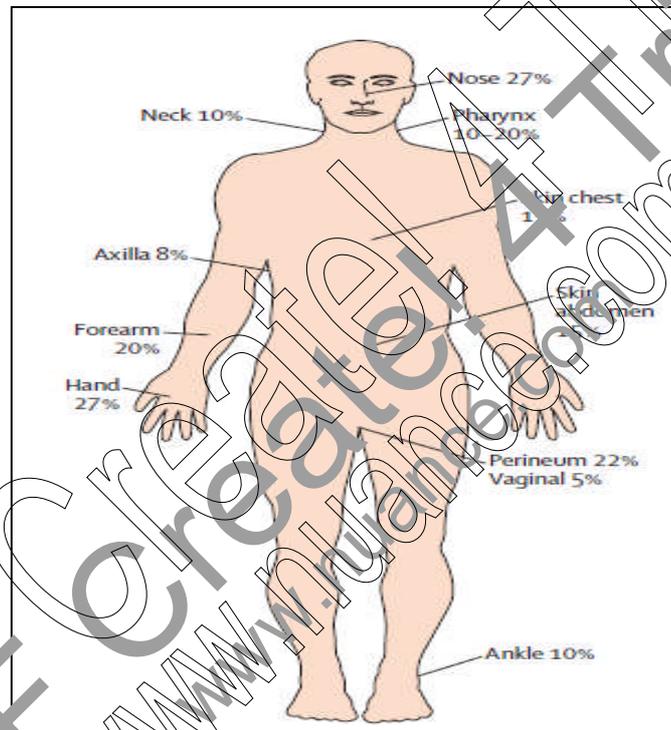


Figure 3 : Répartition de *S. aureus* dans le corps humain (Wertheim et al., 2005).

II.2.2 Caractères bactériologiques

II.2.2.1. Morphologie

S. aureus est une bactérie de forme sphérique (coque), de 0.8 à 1.0 μm de diamètre. Ces coques à gram positif se présentent généralement en grappes, par paires ou en cellules individuelles (CEAEQ, 2012).

C'est une bactérie non mobile, asporulée et acapsulée. Cependant, certaines souches possèdent une microcapsule, qui peut être visualisée uniquement par microscope électronique (Parija, 2009).

II.2.2.2. Caractères culturels

S. aureus est un germe aéro-anaérobie facultatif, mais certaines souches exigent du CO₂ pour croître (Clave et Archambaud, 2009).

Comme tous les staphylocoques, cette espèce n'a pas d'exigences nutritives particulières. Cependant, certaines souches de *S. aureus* nécessitent l'apport d'hémine et de thymidine pour leur croissance (Beraud, 2004).

S. aureus est une espèce psychrophile et mésophile (pousse à une température de 10 à 42 °C avec un optimum de 37 °C), neutrophile (pH optimale de croissance 7, mais de grandes variations sont tolérées) (Carip, 2008).

S. aureus se cultive facilement sur milieu usuel, mais aussi sur milieu riche en NaCl (gélose hyper salé de Chapman), donnant des colonies lisses, rondes, bombées, opaques pouvant être pigmentées en jaune doré ou jaune citrin (Nauciel et Vildé, 2005).

En milieu liquide, *S. aureus* donne un trouble, et il n'y a pas de production de pigment (Parija, 2009).

II.2.2.3. Caractères biochimiques

S. aureus produit l'enzyme catalase qui dégrade l'H₂O₂ en oxygène et en eau. Elle est aussi coagulase et phosphatase positive mais oxydase négative (Parija, 2009).

S. aureus fermentent le mannitol, le saccharose, le maltose, elles hydrolysent l'urée, réduisent les nitrates en nitrites, produisent l'acétoin (VP+), et sont rouge de méthyle (RM) positives mais indole négative (Denis et al. 2011 et Parija, 2009).

II.2.3. Facteurs de virulence

La virulence de *S. aureus* est due à la sécrétion de multiples enzymes et toxines ainsi qu'à des constituants de la paroi (Figure 4)

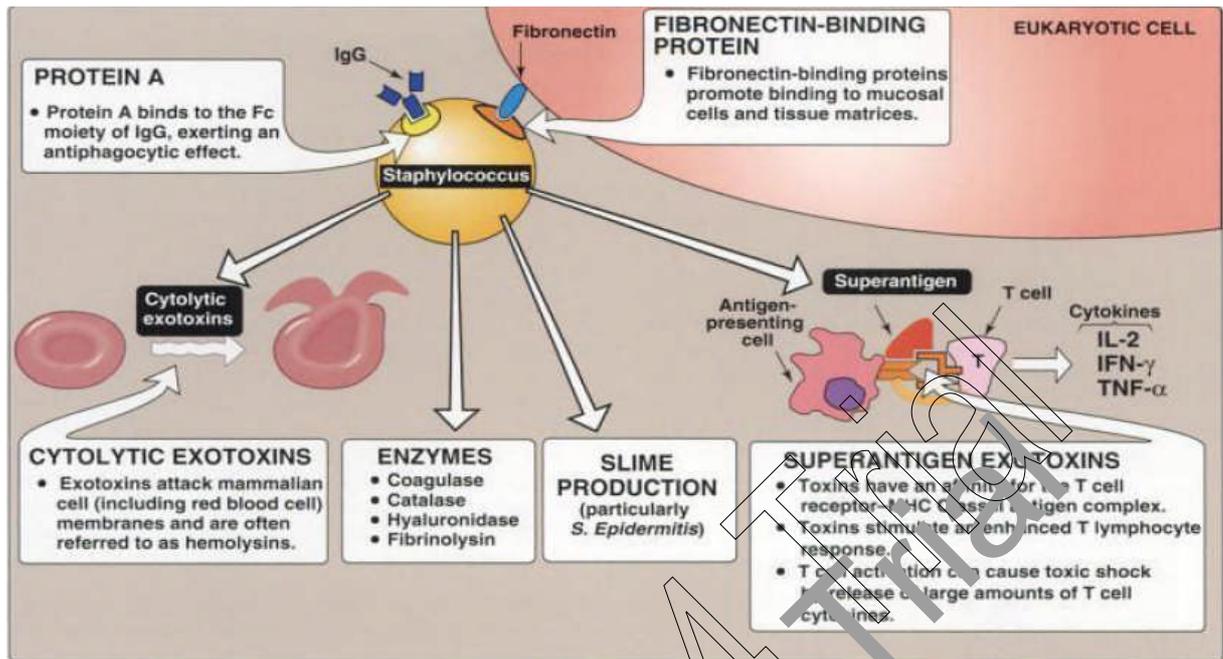


Figure 4 : Facteurs de virulence de *S. aureus* (Harvey et al., 2007).

II.2.3.1. Enzyme

Ces enzymes ont un intérêt pathogénique et un diagnostic important

a. Coagulase libre

C'est un marqueur classique de l'identification de *S. aureus*, elle provoque la coagulation du plasma humain ou de lapin (prélevé sur citrate, oxalate, héparine, ou EDTA). La coagulase libre joue un rôle dans la formation des thrombophlébites suppurées et inhiberait la phagocytose (Avril et al., 2000 ; Beraud, 2004).

b. La coagulase liée ou Clumping factor (ClfA et ClfB)

C'est un récepteur pour le fibrinogène, qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Elle est présente chez 98% des *S. aureus* (Avril et al., 2000 et Beraud, 2004).

Il semble que le **ClfB** soit fortement impliqué dans la colonisation nasale, en facilitant l'attachement de *S. aureus* aux squames (Mulcahy et al., 2012).

c. Nucléase

Elles hydrolysent certains acides ribo- et déoxy-ribonucléiques (ARN et ADN) (Beraud, 2004 ; Elkouri, 1998).

D'autres enzymes existent participant à la virulence de *S. aureus*, parmi lesquelles :

- Enzymes capables de dégrader les tissus conjonctifs: « **Hyaluronidase** », « **lipase** » et « **estérase** » jouant un rôle dans la diffusion tissulaire de la bactérie (**Berche, 2003 ; Lowy, 1998**).
- Enzymes dégradant les membranes et leurs composants : « **phospholipases** », « **lipases** » et « **protéases** » (**Berche, 2003**).
- Enzymes responsables de la diffusion hématogène de *S. aureus* à partir de thrombophlébites locales : « **fibrinolysines** ou **staphylokinases** » (**Beraud, 2004**). Elles dissolvent les caillots et pourrait jouer un rôle dans la formation d'embolus septiques (**Avril et al., 2000**).
- Enzymes capables d'inhiber la bactéricide intra-leucocytaire, en empêchant la formation, par les globules blancs, des radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie : « **catalase** » (**Elkouri et al., 1998**).
- Enzymes capables d'inactiver les β -lactamines, en jouant un rôle important dans la résistance des souches de staphylocoques à ces antibiotiques : « **β -lactamases** » (**Lowy, 1998 ; Schaefer et al., 1999**).

II.2.3.2. Toxines

a. Hémolysines ou toxines (α , β , γ , δ)

Ces toxines possèdent des propriétés cytolytiques, pro-inflammatoires et antigéniques. La toxine α est sécrétée en fin de phase exponentielle de croissance par 80 à 90% des *S. aureus*, c'est un facteur majeur de virulence à l'origine des états de choc septiques staphylococciques (**Caby et al., 2013 ; Vincenot et al., 2008**).

b. La leucocidine de Pantan-Valentine (PVL)

C'est une leucotoxine formée de deux composés S et F agissant en synergie, elle appartient à la famille des toxines formant des pores (**Barvalle et al., 2011 ; Decker, 2008**).

La PVL est de nature protéique, présente une activité leucotoxique et dermonécrotique, mais non hémolytique (**Beraud, 2004**).

Les souches de *S. aureus* hébergeant la PVL (3% des *S. aureus*) sont classiquement associées à des infections cutanées comme les furoncles, des infections ostéo-articulaires sévères et des pneumonies nécrosantes (**Vandenesch, 2011 ; Vincenot et al., 2008**).

c. Les toxines épidermolytiques « exfoliatines »

Elles sont produites par environ 5% des *S. aureus* (Beraud, 2004).

La cible majeur de cette toxine est la desmogléine1, protéine impliquée dans les jonctions intercellulaires de la couche cornée de l'épiderme, expliquant ainsi le décollement observé lors de l'impétigo des jeunes enfants ou du syndrome de la peau ébouillantée (Vincenot et al., 2008).

d. Les entérotoxines

Elles sont de nature protéique, responsables d'intoxication alimentaires, ces toxines sont au nombre de 7 (A, B, C1, C2, C3, D et E), pour la plupart thermostables et résistantes à la cuisson et aux enzymes du tube digestif (Beraud, 2004; Flandrois, 1997).

e. Les toxines de syndrome de choc toxique (TSST)

Ces toxines sont antigéniques et sensibles aux enzymes protéolytiques, elles sont responsables de syndrome de choc toxique (Avril et al., 2000).

II.2.3.3. Antigènes somatiques

Outre le peptidoglycane habituel (muréine), *S. aureus* possède deux composants spéciaux dans sa paroi cellulaire (Spicer, 2003).

a. La protéine A

C'est une protéine propre à *S. aureus*. Elle est liée au peptidoglycane avec une extrémité externe, qui se lie au récepteur Fc des IgG, ce qui protège le germe de l'opsonisation et de la phagocytose (Spicer, 2003).

b. Les acides teichoïques

Sont des polyribosylribitol phosphates retrouvés chez tous les staphylocoques, et sont impliqués dans l'activation du complément et la fixation aux surfaces muqueuses en se liant à la fibronectine (Spicer, 2003).

➤ D'autres composants existent tel que

c. Les polysaccharides de surface

Les polysaccharides capsulaires, présents chez 90 % des *S. aureus*, permettant de mieux résister à la phagocytose (Avril et al., 2000).

d. Protéines MSCRAMMs (*microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules*).

Les MSCRAMMs ont un rôle majeur dans l'adhésion de *S. aureus* aux diverses cellules et tissus de l'hôte (Ferry et Timssit, 2009).

II.2.4. Pouvoir pathogène

II.2.4.1. Mode de transmission

La transmission de *S. aureus* est surtout interhumaine, dont le portage nasal est le principal réservoir impliqué dans la transmission de cette bactérie à l'hôpital comme en milieu communautaire (Lucet, 2009).

La transmission de *S. aureus* peut se faire de deux manières :

- **Directe** : contact, dissémination manuportée à partir du nez ;
- **Indirecte** : à partir de l'environnement notamment hospitalier (vêtements, la literie, le matériel médical, l'air et les poussières) ou à partir des aliments (Caby et al., 2010 ; Schaecher et al., 1999).

II.2.4.2. Infection liées à *Staphylococcus aureus*

S. aureus est le type même de la bactérie pyogène (Denis et al., 2011).

Il est responsable d'infections suppuratives (superficielles et profondes), ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines (Nhan et al., 2012).

II.2.4.2.1. Les suppurations localisées

Selon Faucher et Avril (2002) et Nauciel et Vildé (2005), on distingue les infections suivantes :

- Les infections cutanées (superficielles ou profondes) : furoncles, abcès, panaris, impétigo, anthrax.
- Les infections ORL: sinusite, otite
- Les infections osseuses : ostéomyélites, arthrite, infection sur prothèse
- Les infections viscérales : abcès du poumon, abcès du cerveau.

II.2.4.2.2. Les septicémies et les endocardites

Elles peuvent être secondaires à n'importe quel foyer infecté, mais la fréquence des infections sur cathéter est à souligner (Fauchère et Avril, 2002 ; Nauciel et Vildé, 2005).

II.2.4.2.3. les infections toxéniques

On distingue selon Bowman et al. (2011) et Vandenesch et al. (2007) :

- **Le choc toxique staphylococcique**, avec sa forme mineure, la **scarlatine staphylococcique**. Ces deux syndromes sont dus à la diffusion de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) ou d'entérotoxines.
- **Le syndrome d'exfoliation généralisée** : (appelé aussi **syndrome de Ritter** chez le nouveau-né ou **syndrome de la peau ébouillantée**), avec sa forme mineur

localisée, l'**impétigo bulleux**. Ces deux syndromes sont dus à la diffusion d'exfoliatines.

- **Les intoxications alimentaires staphylococciques** : secondaires à l'ingestion d'entérotoxines.
- **Les pneumonies staphylococciques nécrosantes** : causées par des souches productrices de la PVL.

II.2.4.2.4. Les infections nosocomiales

S. aureus domine la liste des microorganismes responsables des infections nosocomiales (20 à 40%) (Massicotte, 2006 ; Pebret, 2003).

Selon Demondion et al. (2012) et Wertheim et al. (2004), les patients porteurs nasals de *S. aureus* ont un risque accru (trois à six fois plus important que ceux non porteurs) de contracter une infection nosocomiale due à cette bactérie.

II.2.4.2.5. Les infections communautaires

Une infection est définie comme communautaire lorsqu'elle survient chez un patient qui n'était pas hospitalisé ou qui était hospitalisé depuis moins de 48 heures, lorsque les premiers symptômes sont apparus (Eveillard et al., 2002 ; Taitévin, 2011).

Les principales manifestations cliniques des infections communautaires à *S. aureus* sont des infections de la peau et des tissus mous, les infections invasives (pneumonies nécrosantes, septicémies, ostéomyélites, arthrites) étant peu fréquentes (Massicotte, 2006).

II.2.5. Les antibiotiques actifs sur *S. aureus*

II.2.5.1. Définition d'antibiotique

On appelle « antibiotique » toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, substance chimique produite par synthèse ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle, et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes (Brouqui, 2005 ; Casamajor et Descroix, 2009).

II.2.5.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères: l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (Yala et al., 2001 ; Sixou, 2005).

On peut distinguer cinq groupes d'antibiotiques selon leurs cibles : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des acides nucléiques, synthèse des protéines et des acides foliques (figure 5) (Martin, 2008).

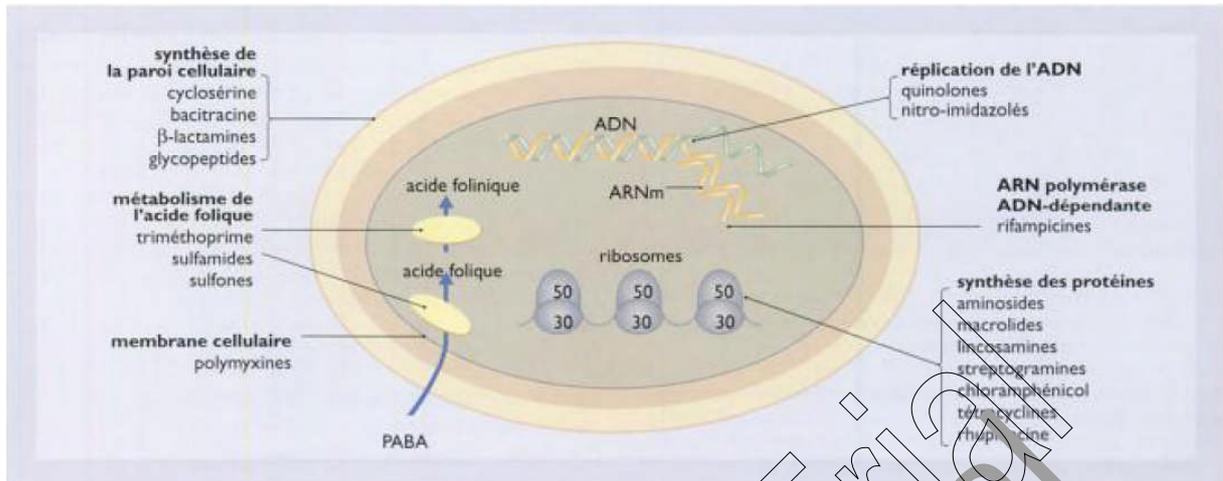


Figure 5: Sites d'action des différentes classes d'antibiotique (Chey no , 1999).

(PABA : acide para- aminobenzoïque).

II.2.5.3. Les antibiotiques actifs sur *S. aureus*

a. Les bêta-lactamines

- Mécanisme d'action

Les β-lactamines ont pour cibles différentes enzymes (protéines liant les pénicillines « PLP » en bloquant la polymérisation du p-nidoglycane e) secondairement la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Daurel et Leclercq, 2008 ; Zitouni Imounache n, 2010).

Quatre types de PLP (PLP1, PLP2, PLP3 et PLP4) sont produits par les *S. aureus*, dont les trois premiers sont considérés comme les cibles les plus importantes des bêta-lactamines (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Massicotte, 2006).

- Mécanismes de résistance

Deux mécanismes principaux de résistance sont décrits pour *S. aureus*

- La production de β-lactamases (pénicillinase)
- La modification de la cible des β-lactamines.

▪ Mécanisme de résistance par production de β-lactamases

Les β-lactamases sont des enzymes qui catalysent l'inactivation des pénicillines en hydrolysant le cycle β-lactame (Courvalin et Leclercq, 2012).

La pénicilline G, l'ampicilline et l'amoxicilline sont les β-lactamines les plus actives, mais du fait de la forte prévalence de la production de pénicillinases (80 à 90% des *S. aureus*), ce sont les pénicillines M (oxacilline et cloxacilline) qui restent plus actives.

- La pénicilline G, l'ampicilline, l'amoxicilline, la ticarcilline et la piperacilline seront inactivés si une résistance à la pénicilline G est détectée.

- En revanche, l'association à des inhibiteurs de pénicillinase (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) restaure une sensibilité pour ces antibiotiques
(Courvalin et Leclercq, 2012 ; Daurel et Leclercq, 2008).

- **Mécanisme de résistance par modification de la cible des bêta-lactamines**

Cette résistance est liée à la présence du gène *mecA* qui code pour une PLP autre que les PLP normales de *S. aureus* nommée « **PLP2a** » ou « **PLP'** » ayant une faible affinité pour les β -lactams, en entraînant par conséquent une résistance à l'ensemble des β -lactamines, y compris les pénicillines M « oxacilline » (mécicilline anciennement) (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Delorme et al., 2011).

Actuellement, autour de 25 % des *S. aureus* sont résistants à la mécilline (SARM) (Delorme et al., 2011).

- Les souches dites **BORSA** (borderline oxacillin résistant *S. aureus*) montrent une activité diminuée à l'oxacilline, non due à la présence du gène *mecA*, mais liée à l'hyperproduction de la pénicillinase touchant l'oxacilline, sans que l'on puisse la classer résistante (Daurel et Leclercq, 2008 ; Rahal et al., 2011).
- Les souches dites **MODSA** (modified oxacillin-binding protein *S. aureus*) présente une résistance pour les bêta-lactamines à cause d'une surproduction de PLP4 (dont l'affinité pour les bêta-lactamines est plus faible) ou d'une modification de PLP2 par mutation. (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Rahal et al., 2011)

b. Les aminosides

- Mécanisme d'action

Les aminosides inhibent la synthèse protéique, en exerçant une activité bactéricide rapide qui justifie leur association aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi (oxacilline et vancomycine) pour le traitement des infections graves (Daurel et Leclercq, 2008).

- Mécanisme de résistance

La résistance des staphylocoques aux aminosides est surtout due à la production d'enzymes inactivatrices. Trois classes d'enzymes existent dont chacune est responsable d'un phénotype de résistance spécifique (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Daurel et Leclercq, 2008).

Les principaux phénotypes de résistance sont indiqués dans le tableau III.

Tableau III : Enzymes inactivatrices des aminosides et phénotypes de résistance (Daurel et Leclercq, 2008).

Phénotype	Acronyme du phénotype	Enzyme
Kanamycine	K	Aminoside phospho-transférase
Kanamycine-tobramycine	KT	Aminoside nucléotidilo-transférase
Kanamycine-tobramycine-gentamycine	KTG	Aminoside acétylo-transférase

c. Les glycopeptides

- Mécanisme d'action

Deux glycopeptides sont commercialisés, la vancomycine et la teicoplanine. Ils agissent sur la paroi bactérienne en bloquant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe (Daurel et Leclercq, 2008).

- Mécanisme de résistance

La résistance des *S. aureus* aux glycopeptides résulte de l'acquisition du gène *VanA* impliqué dans la résistance des entérocoques aux glycopeptides (Moncriol et al., 2003).

Différents termes et acronymes, VISA, hVISA, hétéro-VISA, ont été utilisés pour définir les souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides et plus récemment VRSA pour les souches résistantes (Daurel et Leclercq, 2008).

d. Les macrolides, lincosamides-streptogramines

- Mécanisme d'action

Les Macrolides, Lincosamides et Streptogramines (MLS) appartiennent au même groupe du fait d'un mode d'action proche (inhibition de la synthèse protéique) et d'une résistance fréquemment croisée entre ces antibiotiques (Daurel et Leclercq, 2008).

Leur place dans l'arsenal thérapeutique antistaphylococcique est d'autant plus importante qu'ils sont une alternative en cas d'allergie aux pénicillines (Batard et Potel, 2006)

- Mécanismes de résistance

Différents mécanismes de résistance aux MLS existent, dont les principaux sont indiqués dans le tableau IV.

Tableau IV: Principaux mécanismes de résistance aux MLS et Phénotypes correspondants chez les Staphylocoques (Daurel et Leclercq, 2008).

Mécanisme	Classe de gènes	Phénotype	Phénotype de résistance			
			14-, 15-M Str	16-M	Lin	
Methylation ribosomale	<i>erm(A), erm(C)</i>	MLS _B inductible	R S	S	S	
		MLS _B constitutif	R S	R	R	
Efflux	<i>msr(A)</i>	MS _B	R S	S	S	
Modification enzymatique	<i>lnu(A)</i>	L	S S	S	R	
Efflux ?	<i>vga(A), vga(Av), lsa(B)</i>	LS _A	S S/I	S	I	
Modification enzymatique des facteurs A ou B +/- efflux du facteur A	<i>vat(A), vat(B), vat(C), vga(A), vga(Av), vga(B), vgb(A), vgb(B)</i>	S ou LS	S R	S	S/I	

M : macrolide, **Lin** : Lincosamide, **Str** : Streptogramine, **S** : sensible, **R** : Résistante,

I : intermédiaire

e. Autres familles d'antibiotiques

- Les quinolones

Les quinolones inhibent l'action des topoisomérases de type II (ADN gyrase), et la topoisomérase IV, en entraînant ainsi l'arrêt de la réplication et de la transcription de l'ADN bactérien. La résistance se fait soit par mutation touchant l'ADN gyrase ou la topoisomérase IV, ou par efflux (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Daurel et Leclercq, 2008).

- Sulfamides et triméthoprime

Les sulfamides et les triméthoprimes interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques et des protéines.

Chez *S. aureus*, la résistance aux sulfamides est fréquente (30 à 50 % des souches sensibles à la méticilline (SASM) et 80 à 95 % des SARM), souvent par modification de la cible. La résistance aux triméthoprimes est aussi due à une modification de la cible (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Daurel et Leclercq, 2008).

- Acide fusidique

L'acide fusidique, représentant unique de sa famille, très actif sur *S. aureus*, il inhibe la synthèse protéique en empêchant la progression de la chaîne polypeptidique au niveau du ribosome. La résistance se fait soit par mutation dans le gène *fusA* codant le facteur d'élongation G, ou par diminution de la perméabilité (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Daurel et Leclercq, 2008).

- Rifampicine

La rifampicine inhibe l'action de l'ARN polymérase, en bloquant ainsi la transcription. La résistance se fait par mutations au sein du gène *rpoB* codant la chaîne bêta de l'ARN polymérase (Daurel et Leclercq, 2008).

- Oxazolidinones

C'est un inhibiteur de la synthèse protéique, il est très actif sur les *S. aureus*, incluant les SARM. Il existe de rares souches de *S. aureus* résistantes au linézolide (Courvalin et Leclercq, 2012 ; Daurel et Leclercq, 2008).

- Mupirocine

Exerce une action bactéricide par inhibition de la synthèse protéique (Lucet, 2009). Le développement des mutants de *S. aureus* résistants à la mupirocine s'est produit de façon lente et graduelle à la suite de l'exposition répétée à des concentrations croissantes de cet antibiotique (GlaxoSmithKline Inc, 2001).

II.2.6. Traitement et prévention

II.2.6.1. Traitement

Les infections à staphylocoque posent des problèmes thérapeutiques difficiles du fait de la fréquence des résistances aux antibiotiques (Berche, 2003).

Le traitement curatif des infections graves à staphylocoques repose sur une antibiothérapie bactéricide et sur l'évacuation des foyers infectieux (corps étranger, évacuation d'une collection, etc.) (Ferry et Timssit, 2009).

Le choix de l'antibiothérapie repose sur 3 critères principaux : le site de l'infection, les signes de gravité, et la sensibilité de la souche à la méticilline.

D'une façon générale, l'antibiothérapie anti-staphylococcique repose sur une pénicilline M en cas de sensibilité à la méticilline, ou sur un glycopeptide en cas de résistance à la méticilline (Batard et Dotel, 2006).

En cas d'infection toxinique, l'administration parentérale d'une bi-antibiothérapie est utilisée en associant un anti-staphylococcique bactéricide et au moins une molécule à activité anti-toxinique (**Ferry et Timssit, 2009 ; Nhan et al., 2012**).

En présence des signes de gravité (endocardite, pneumopathie, infection ostéoarticulaire, infection méningée) l'adjonction d'un aminoside (gentamicine) à la pénicilline M intraveineuse ou au glycopeptide est utilisée, afin d'accélérer la bactéricidie au sein du foyer infectieux et de réduire la durée de bactériémie et le risque de dissémination hémotogène de l'infection (**Batard et Dotel, 2006**).

II.2.6.2. Prévention

L'éradication de *S. aureus* du nez s'est avérée efficace, en réduisant l'incidence des infections staphylococciques (**Van Belkum et al., 2009**).

L'objectif de la décontamination (ou décolonisation) est d'une part d'éradiquer le portage de *S. aureus* et ainsi de diminuer le nombre d'infections invasives ou non invasives à *S. aureus*, d'autre part de réduire le nombre des réservoirs (**Lucet, 2009**).

Le produit à ce jour le plus employé est la **mupirocine**, antibiotique topique n'ayant pas de passage systémique et n'ayant pas d'analogie structurale et/ou de résistance croisée avec les antibiotiques systémiques (**Lucet, 2009**).

Ceci est accompagné avec :

- Lavages antiseptiques topiques (gluconate de chlorhexidine) au cours des douches quotidiennes, et des bains hebdomadaires chlorinés ;
- Usage unique de serviettes de bain et des vêtements avec lavage des vêtements à l'eau chaude ;
- Si un patient souffre d'infections récurrentes à SARM, des antibiotiques par voie orale doivent souvent être ajoutés. En outre, tous les membres de la maison doivent être soumis aux mesures générales de décolonisation.
- Les personnels soignant porteurs de SARM sont exclus d'un contact direct avec les patients et traités à la mupirocine. Ils sont autorisés à soigner de nouveau les patients dès que les résultats des cultures sont négatifs (**BD.2009**).

Chapitre 2

Matériel

Et

Méthodes

Partie expérimentale

Notre étude a été menée pendant une période prospective allant du 1^{er} février jusqu'à 31 juillet 2013 au niveau de laboratoire central de biologie (unité de bactériologie) de l'Établissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik.

Durant une période de six mois, 264 prélèvements nasaux ont été analysés, en vue de déterminer la fréquence de portage asymptomatique de *Staphylococcus aureus* dans les cavités nasales d'une population humaine.

Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1. Matériel non biologique

Tout le matériel destiné à faire ce type de recherche était disponible au laboratoire de bactériologie. Il est représenté par :

- les verreries, l'appareillage, les milieux de culture, les colorants et réactifs (Annexe2).
- Les disques d'antibiotiques : sont des pastilles de papier buvard imprégnés par une concentration bien définie d'antibiotique et conditionnés dans des cartouches unitaires de 50 disques utilisés pour l'antibiogramme, ces disques doivent être conservés dans des réfrigérateurs à +4°C.
- les antibiotiques en poudre injectable (oxacilline) : utilisés pour le screening test.

I.2. Matériel biologique :

▪ Prélèvements

Dans le cadre de notre étude, 264 prélèvements nasaux ont été effectués sur des patients pris au hasard (différentes classes d'âge, de sexe féminin et masculin), ne souffrant d'aucune pathologie infectieuse, venant consulter les différents services de l'EPH de Boufarik (urgences médico-chirurgicales, chirurgie homme, chirurgie femme, médecine interne homme, médecine interne femme, pédiatrie, néonatalogie), dans le but de déterminer la fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* chez cette population humaine.

- **Souches de référence:** sont utilisées pour valider les différents tests effectués.

- *S. aureus* ATCC 25923 (sensible à l'oxacilline)
- *S. aureus* ATCC 43300 (résistante à l'oxacilline)

I. Méthodes

II.1. Prélèvement

II.1.1. Procédure de prélèvement

- Humidifier un écouvillon simple en coton stérile dans un tube d'eau physiologique stérile à 0.9% ;
- Insérer l'écouvillon dans la narine antérieure du patient (1-2 cm) et recueillir les sécrétions nasales en effectuant des mouvements rotatifs ;
- Répéter la même procédure dans l'autre narine du patient sans changer d'écouvillon ;
- Placer l'écouvillon dans un tube de BHIB (milieu d'enrichissement qui nous donne plus de chance d'avoir des résultats positifs) ;
- Etiqueter les tubes (N°, nom, prénom, service).
- ❖ Les prélèvements seront ensemencés après 24 h d'incubation à 37°C.
- ✎ La réalisation d'un prélèvement dans les meilleures conditions d'asepsie est d'une importance primordiale, car la qualité de l'échantillon conditionne la valeur des résultats.

II.1.2. Fiches d'inclusion

Pour chaque patient prélevé, une fiche de renseignement sera remplie soigneusement en spécifiant : le nom, le prénom, l'âge, sexe, renseignements cliniques et l'hospitalisation (Annexe1)

II.2. Ensemencement

Milieu utilisé

Gélose de Chapman coulé en boîtes de pétri sur 4 mm d'épaisseur, bien séché avant emploi « milieu sélectif pour les staphylocoques » (**Annexe 3**).

Technique

- Préparer les boîtes de pétri et les numéroter ;
- Retirer les prélèvements de l'étuve ;
- Ensemencer chaque boîte par l'écouvillon correspondant, puis réensemencé à l'aide d'une pipette pasteur stérile ;
- Incuber les boîtes ensemencées à 37°C pendant 24 heures.

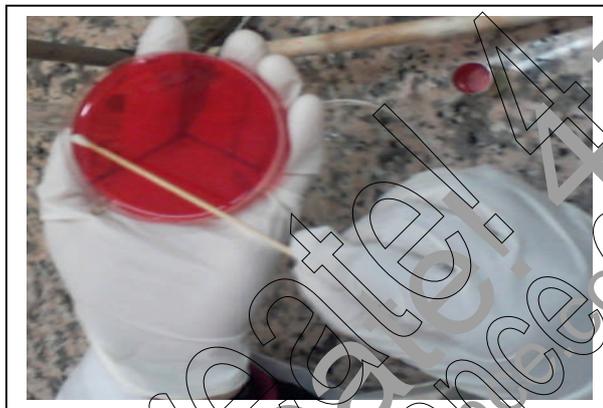


Figure 6 : Ensemencement de prélèvement sur Chapman (photo personnelle)

Lecture

Le but de notre étude est la recherche de *S. aureus*, donc prendre en considération uniquement les cultures qui ont dégradé le mannitol.

Après 24 h d'incubation

- S'il y a présence d'une culture jaune doré (dégradation du mannitol), la culture doit être identifiée (figure 8-A)
- S'il y a présence d'une culture blanche (figure 8-B), les prélèvements seront éliminés (correspond aux staphylocoques blancs).

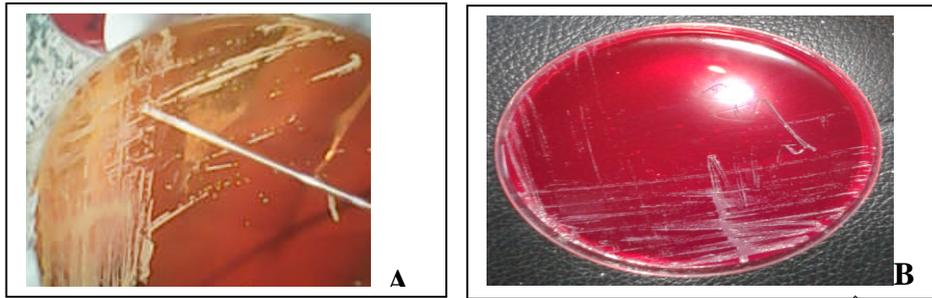


Figure 7 : Aspect des cultures après ensemencement A : culture doré, B : culture blanche
(photos personnelles)

II.3. Identification de l'espèce

II.3.1. Réisolement et examen macroscopique des colonies

Le réisolement permet l'obtention d'une culture pure, permettant ainsi d'effectuer les tests d'identification ou d'étudier la sensibilité des isolats aux antibiotiques.

Milieux utilisés

Gélose nutritive, gélose de Chapman et gélose au sang (cuite et crue) coulées en boîtes de pétri sur 4 mm d'épaisseur et bien séchées avant emploi (**Annexe 3**).

Technique

- Préparer les boîtes de pétri et les numérotées ;
- Racler à l'aide d'une pipette pasteur ou stérile à partir des cultures précédentes suspectes positives ;
- Ensemencer les boîtes de pétri selon la méthode en quadrant ;
- Incuber les boîtes ensemencées pendant 24 h à 37°C.

Lecture : après 24 h d'incubation, des colonies bien distinctes seront observées

- Sur Gélose Nutritive (GN) : des colonies lisses produisant en général un pigment jaune vont être observé ;

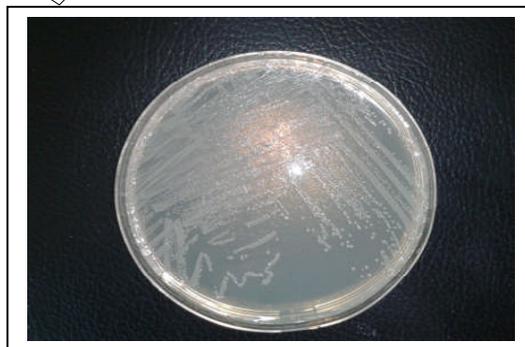


Figure 8 : Aspect de culture sur Gélose Nutritive (photo personnelle)

- **Sur Gélose de Chapman :** des colonies dorées bien distinctes seront observées dont la plupart des souches de *S. aureus* fermentent le mannitol et font virer le milieu du rouge au jaune orangé

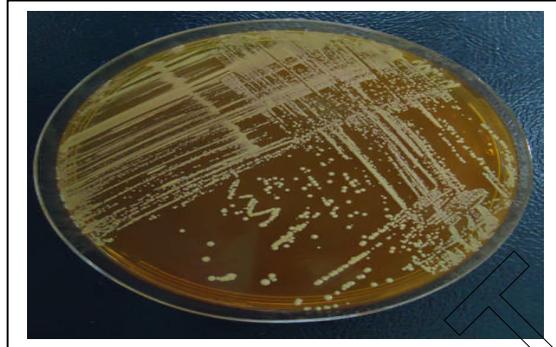


Figure 9 : Aspect de culture sur Chapman (photo personnelle)

- **Sur Gélose au Sang Frais (GSF) :** des colonies jaunes, souvent entourées d'une grande zone d'hémolyse (hémolyse type β) seront observées.



Figure 10 : Aspect de culture su GSF (photo personnelle)

- **Sur Gélose au Sang Coagulé (GSC) :** les colonies sont circulaires, volumineuses, opaques, pigmentées en jaune doré, légèrement bombées ou aplaties, présentant une surface luisante et humide.

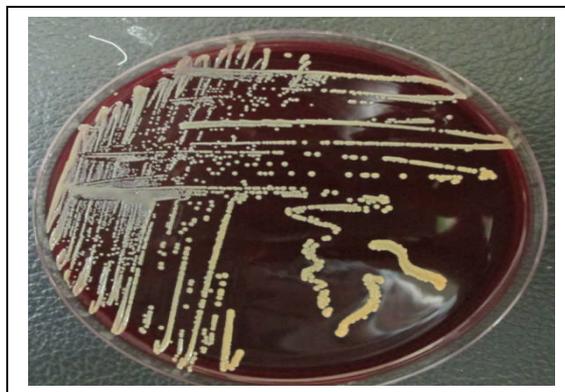


Figure 11 : Aspect de culture su GSC (photo personnelle)

II.3.2. Examen microscopique

❖ Coloration de Gram

Principe : c'est la coloration de base en bactériologie qui permet de classer les bactéries en deux grands groupes (bactéries à Gram positives et bactéries à Gram négatives) selon la composition de leurs parois en protéine et en lipides (Denis *et al.*, 2011).

Elle permet aussi d'observer la morphologie des cellules bactériennes et leur regroupement.

Technique

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile à 0.9% sur une lame ;
- Prélever à l'aide d'une pipette pasteur stérile une colonie bien isolée et la déposer sur la goutte ;
- Bien étaler la suspension bactérienne sur la lame formant une couche mince, puis fixer à la chaleur ;
- Recouvrir la lame avec le violet de gentiane et laisser agir 1 mn ;
- Rejeter le colorant ;
- Recouvrir la lame par le lugol et laisser agir 1 mn, puis rejeter le colorant ;
- Décolorer la préparation à l'alcool, pas stopper la décoloration par rinçage à l'eau ;
- Recouvrir la lame avec de la fuscine et laisser agir 30 secondes à 1 mn ;
- Rincer à l'eau, laisser sécher, puis ajouter une goutte d'huile à émersion et observer au microscope optique (G*1000).

Lecture : des Cocci disposés en amas, en tétrade et en diplocoque de couleur violet seront observés.

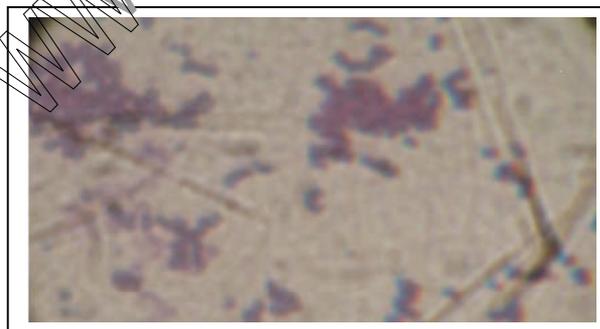


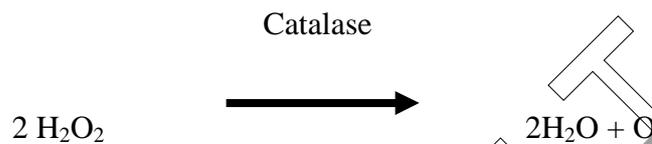
Figure12 : *S. aureus* coloré au Gram G*1000 (photo personnelle)

II.3.3. Identification biochimique

II.3.3.1. Test de catalase

Principe

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition de l'eau oxygénée « H_2O_2 » (dont l'action est létale pour les bactéries) en eau et en oxygène selon la réaction suivante (Denis et al., 2011).



La recherche de cette enzyme est utile pour différencier les Staphylocoques (catalase+) des Streptocoques (catalase-).

Technique

Sur une lame stérile, déposer une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2), puis ajouter à partir de la culture bactérienne une colonie bien isolée.

Lecture

La présence de catalase se traduit par l'apparition des bulles d'air dues à la libération d'oxygène par les bactéries catalase+ positive.

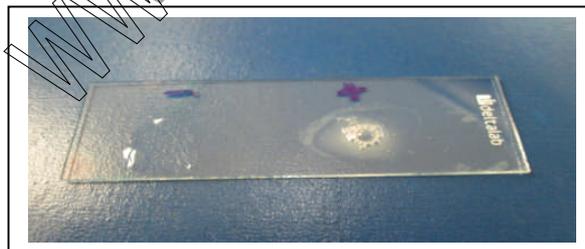


Figure 13 : Test de catalase (photo personnelle)

II.3.3.2. Test de coagulase

Ce test permet la différenciation de *S. aureus* des autres Staphylocoques à coagulase négative, dont la production de coagulase libre par *S. aureus* provoque une coagulation du

plasma humain ou de lapin (prélevé sur citrate, oxalate, héparine, ou EDTA) qui se traduit par la formation d'un culot de coagulation.

Technique

Dans notre étude nous avons utilisé le plasma humain pour la mise en évidence de la coagulase libre.

Pour chaque souche à tester 3 tubes sont utilisés :

- Prendre 3 tubes secs et mettre dans chacun 0.5 ml du plasma humain ;
- Dans le 1^{er} tube : racler à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelques colonies de la souche à tester et les mettre en suspension dans le plasma ;
- Dans le 2^{ème} tube (contrôle positif) : racler quelques colonies de la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923 et les mettre en suspension dans le plasma ;
- Le 3^{ème} (contrôle négatif) : laisser comme témoin.
- Placer les tubes dans l'étuve à 37°C et les incuber pendant 6 à 24 h.
- Les tubes doivent être observés d'heure en heure car le caillot peut être suivi d'une redissolution du caillot provoqué par la fibrinolysine.

Lecture

L'apparition d'un caillot est observée en inclinant les tubes à 90°,

- S'il y a présence d'une coagulation dans le tube contrôle positif et le tube contenant la souche à tester, avec absence de coagulation dans le tube témoin, cette souche correspond à un staphylocoque à coagulase positive.
- S'il y a présence d'une coagulation uniquement dans le tube contrôle positif, la souche à tester correspond à un staphylocoque à coagulase négative.
- S'il y a absence de coagulation dans le tube contrôle positif, le test doit être refait.

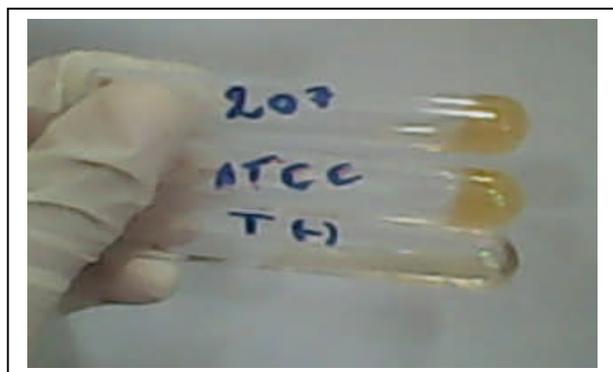


Figure 14 : Test de coagulase (photo personnelle)

II.3.3.3. Test de DNase

Principe : ce test permet la mise en évidence de l'enzyme DNase produite par la souche à étudier qui est capable de dégrader l'ADN (Denis *et al.*, 2011).

Milieu utilisé

Gélose à L'ADN coulé en boîte de pétri sur 4 mm d'épaisseur, bien séché avant emploi (Annexe 3).

Technique

- Préparer les boîtes de pétri et les numéroter ;
- A l'aide d'une pipette pasteur stérile, racler une colonie bien distincte à partir d'une culture jeune de 18h ;
- Ensemencer en réalisant une strie à la surface de la gélose ;
- Incuber les boîtes ensemencées pendant 18 à 24 h à 37 °C.

Lecture

L'hydrolyse de l'ADN est révélée en ajoutant de l'acide chloridrique. Un halo clair est visible au pourtour de la strie lorsque l'ADN est dégradé, alors que l'ADN sous l'action de l'acide est à l'origine de précipité blanc et opaque (figure 15). Si ce test est positif la souche à étudier correspond à un *S. aureus*.



Figure 15 : Test de DNase (photo personnelle)

II.4. Conservation

Les souches de *S. aureus* identifiées et confirmées seront conservées dans des milieux adéquats (Annexe 3). Ces souches peuvent faire l'objet à des recherches complémentaires, ou utilisées dans les cas des formations et du contrôle de qualités.

Technique

A partir d'une culture pure de 24 h, prélever quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis les ensemencées sur la gélose de conservation (Gélose de stock) par pique centrale et les conservées à une température ambiante et à l'abri de la lumière.

II.5. Etude de la sensibilité des *S. aureus* isolés aux antibiotiques

II.5.1. Antibiogramme

L'antibiogramme est effectué selon la méthode classique de diffusion de antibiotiques sur milieu gélosé à partir des disques d'antibiotiques, en utilisant les antibiotiques recommandés pour l'étude de *S aureus*, fournis par le fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national en médecine humaine (selon les recommandations de l'OMS 6^{ème} édition 2011) (**annexe 5**) (**Rahal et al. 2011**).

Milieus utilisés

Gélose Muller-Hinton simple coulé en boîte de pétrie sur 4 mm d'épaisseur, et bien séché avant emploi (**Annexe 3**).

Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h, récupérer à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Bien décharger la pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 McF;
- La suspension bactérienne à 0.5 McF doit être diluée à 1/100^{ème} dans le cas des antibiotiques mentionnés dans l'annexe (5).

Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension préparé ;
- L'essorer en pressant fermement contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosé, de haut en bas, en stries sérés ;
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte chaque fois de 60°, puis passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Application des disques d'antibiotiques

- A l'aide d'une pince bactériologique stérile déposer un maximum de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm.
- Appuyer doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu, en évitant de déplacer les disques après application.
- ❖ Incuber les boîtes à 37°C pendant 18 à 24 h.



Figure 16: (A) Ensemencement de l'inoculum sur Mueller-Hinton, (B) application des disques d'antibiotiques (photos personnelles)

Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ;
- Comparer les résultats obtenus avec les valeurs critiques figurants dans l'annexe (5) ;
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible (**S**), résistante (**R**) ou intermédiaire (**I**)



Figure 17 : Résultats de l'antibiogramme (photo personnelle)

II.5.2. Recherche de la résistance à l'oxacilline

Pour *S. aureus*, le disque de céfoxitine est comparable à celui de l'oxacilline pour détecter la résistance à l'oxacilline par production de PLP2a (gène *mecA*). L'interprétation des résultats se fait selon le tableau suivant

Tableau V : recherche de la résistance à l'oxacilline et interprétation des tests (méthodes de diffusion des disques).

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

En cas de discordance entre le disque d'oxacilline et de céfoxitine, effectuer une des recherches suivant :

- Recherche de la PLP2a (**Annexe 4**).
- Ou screening test à l'oxacilline
- Ou détermination de la CMI de l'oxacilline
- Ou recherche du gène *mecA* (PCR)

Dans notre étude nous avons utilisé uniquement le screening test à l'oxacilline pour confirmer ou infirmer la résistance à l'oxacilline.

❖ Screening test à l'oxacilline pour *S. aureus*

Milieu utilisé

Gélose Muller-Hinton sans sérum (enrichi à 4% de NaCl) additionné de 6 µg/ml d'oxacilline, bien séché avant emploi (**Annexe 3**).

Préparation du milieu

- Dissoudre 6 mg d'oxacilline (poudre injectable d'un flacon de 1 g) dans 10 ml d'eau distillé stérile, puis faire une dilution au dixième ;
- Repartir la solution obtenue à raison de 2 ml dans les boîtes de pétri à l'aide d'une seringue ;
- Ajouter 18 ml de la gélose Muller-Hinton additionné de 4% NaCl
- Mélanger en faisant des mouvements rotatoires.

Préparation de l'inoculum

Pour chaque souche à tester 2 souches doivent être testé en parallèle :

- *S. aureus* ATCC 25923 (sensible à l'oxacilline)
 - *S. aureus* ATCC 43300 (résistante à la méticilline)
- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h, racler à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
 - Bien décharger la pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% ;
 - Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 McF.

Ensemencement

- L'ensemencement doit se faire par spot, en appliquant verticalement sur la gélose l'extrémité d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne.
- ❖ Incuber les boîtes 24 h à 37°C.



Figure 18 : Ensemencement par spot pour le screening test (photo personnelle)

Lecture

La présence de plus d'une colonie de la souche à tester suffit pour indiquer une résistance à l'oxacilline, impliquant une résistance à toutes les β -Lactamines

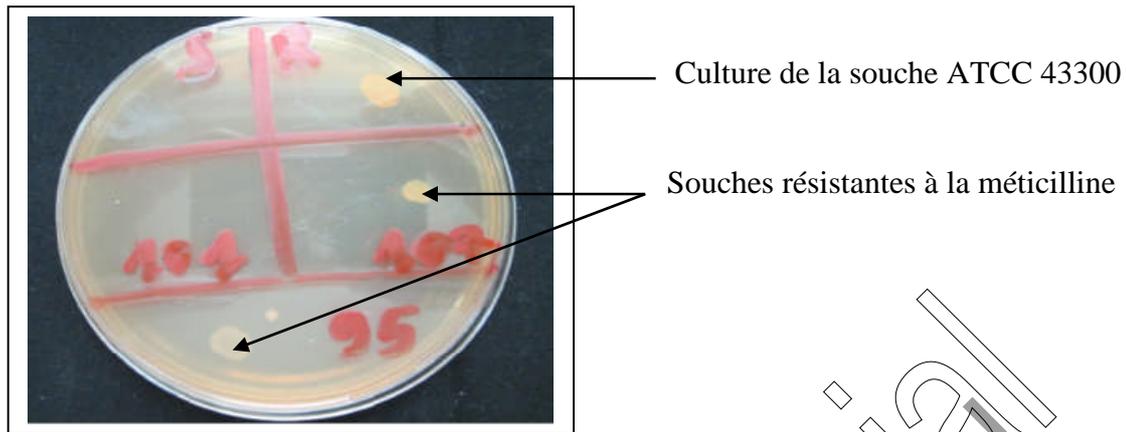


Figure 19 : Résultat du screening test (photo personnelle)

II.5.3. Contrôle de qualité de l'antibiogramme

Un test de contrôle de qualité est pratiqué à chaque nouveau lot de Mueller-Hinton et/ou d'antibiotiques, en utilisant la souche de référence (ATCC 25923) dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites pour les bactéries isolés dans le but de :

- Vérifier la performance des milieux utilisés dans les tests
- Vérifier la performance du personnel qui effectue les tests et la lecture.

Les diamètres des zones d'inhibition de la souche de référence sont comparés avec les valeurs critiques décrites selon les normes CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) fournis par le fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national en médecine humaine (selon les recommandations de l'OMS 6^{ème} édition 2011), ils doivent être en parfaite concordance avec ces normes.

- ✶ Un schéma récapitulatif de toutes les étapes d'identification des *S. aureus* et la recherche de leurs sensibilités aux antibiotiques est représenté dans la figure 21.

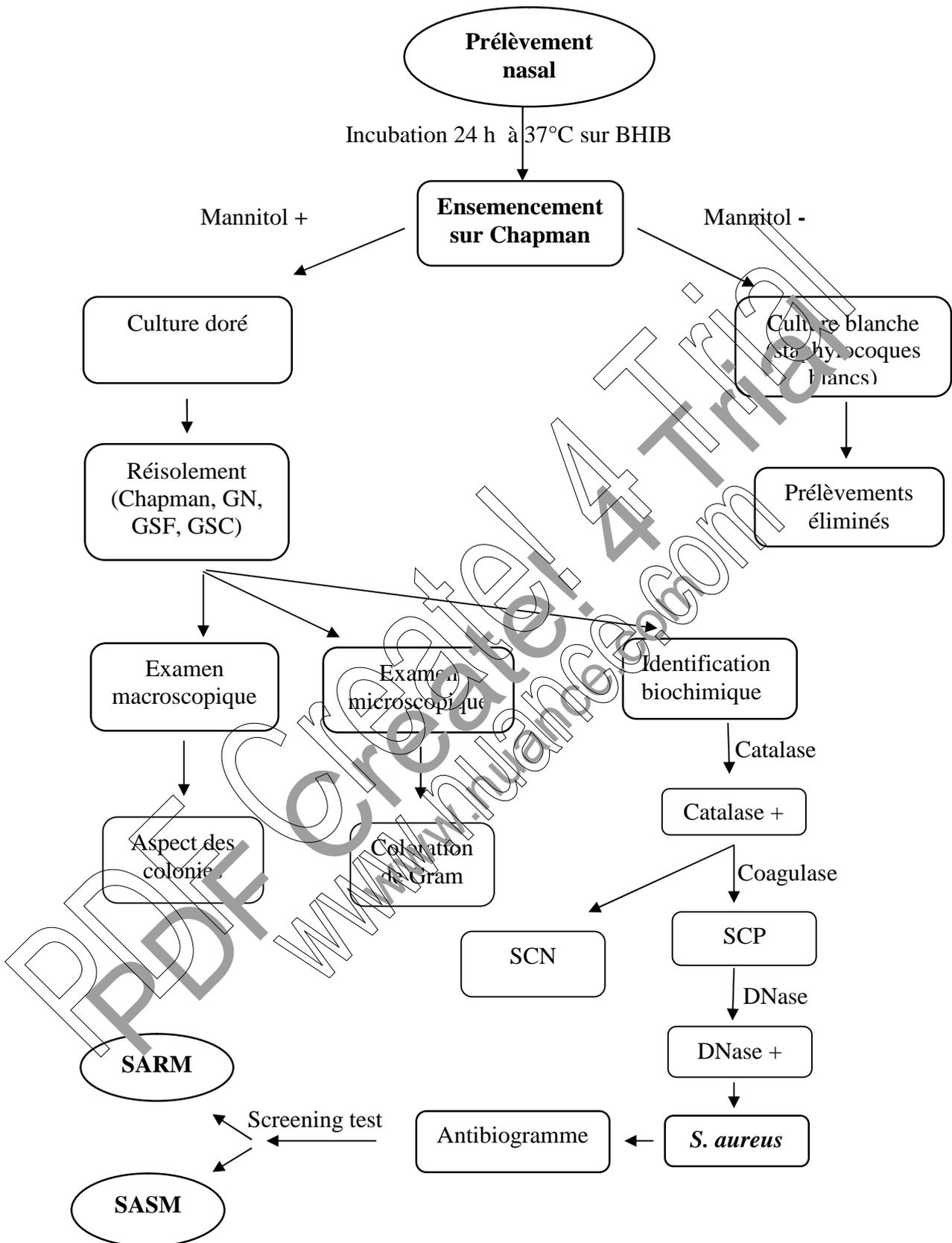


Figure 20: Schéma d'identification de *S. aureus* et recherche de leur résistance aux antibiotiques.

SCN : Staphylocoques à coagulase négatif, **SCP :** Staphylocoques à coagulase positif.

Chapitre 3

Résultats

Et

Discussion

I. Résultats

Notre étude a été effectuée au niveau de laboratoire centrale de bactériologie de l'EPH de Boufarik du 1 février jusqu'à 31 juillet 2013. Au total, 264 prélèvements nasaux ont été effectués sur des patients pris au hasard, internes et externes, de différentes tranches d'âge et des deux sexes, ne souffrants d'aucune pathologie infectieuse. Ces prélèvements ont fait l'objet d'une recherche bactériologique dans le but de déterminer la fréquence de portage nasal asymptomatique de *S. aureus*.

I.1. Répartition des patients en fonction du sexe

Sur les 264 patients prélevés, 139 sont de sexe masculin (52.7%), et 125 de sexe féminin (47.3%). Ces résultats sont représentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Répartition des patients en fonction du sexe

Sexe	Effectifs	Fréquence
Masculin	139	52.7%
Féminin	125	47.3%
Total	264	100%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 22)

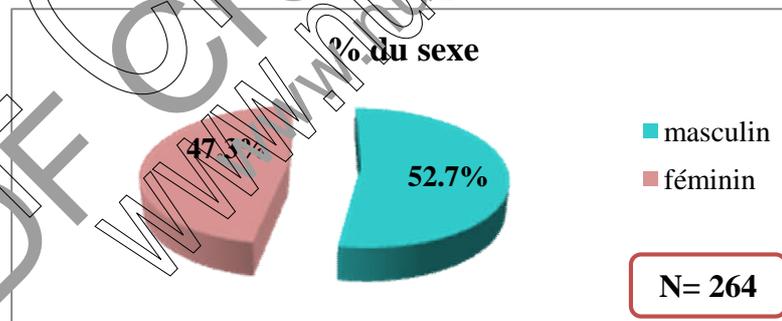


Figure 21 : Répartition des patients en fonction du sexe

I.2. Répartition des patients en fonction de l'âge

Selon l'âge nous avons réparti notre population d'étude en 2 classes (enfants et adultes). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Répartition des patients en fonction de l'âge

Âge	Effectifs	Fréquence
Enfants	104	39.4%
Adultes	160	60.6%
Total	264	100%

On note dans ce tableau une prédominance des prélèvements provenant d'adultes (60.61%)
Ces résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (figure 23).

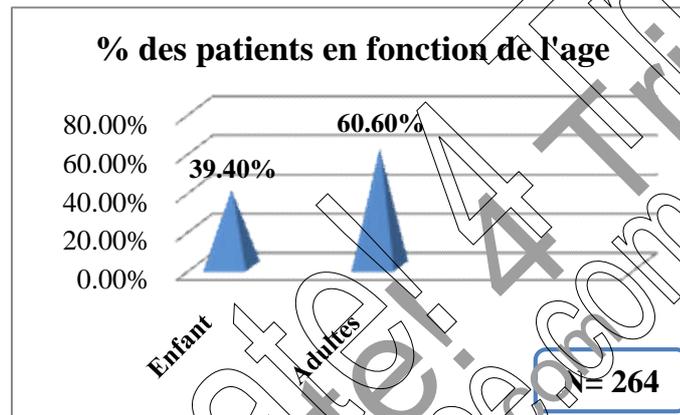


Figure 22 : Répartition des patients en fonction de l'âge

I.3. Répartition des patients internes et externes

Sur les 264 prélèvements effectués, 152 (57.6%) provenant à partir des patients hospitalisés pour une pathologie autre qu'une maladie infectieuse et 112 (42.4%) provenant des patients externes (Tableau VIII).

Tableau VIII: Répartition des patients internes et externes

	Effectifs	Fréquence
Patients hospitalisés	152	57.6%
Patients non hospitalisés	112	42.4%
Total	264	100%

Les résultats obtenus sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 24).

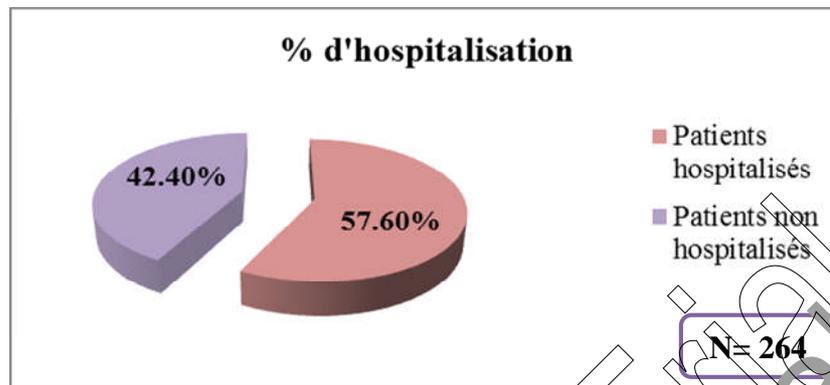


Figure 23: Répartition des patients interne et externes

I.4. Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus*

L'examen bactériologique des 264 prélèvements a permis d'isoler et d'identifier 102 souches (38.6%) de staphylocoque.

La recherche de la coagulase et de la DNase ont permis l'identification de 41 souches de *S. aureus*. Ces *S. aureus* représentent 40.2% des staphylocoques et 15.5% de l'ensemble des prélèvements.

Ces résultats de portage asymptomatique des *S. aureus* dans les cavités nasales sont représentés dans le tableau IX.

Tableau IX: Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus*

portage	Effectifs	Fréquence
Portage positif	41	15.5%
Portage négatif	223	84.5%
Total	246	100%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 25)

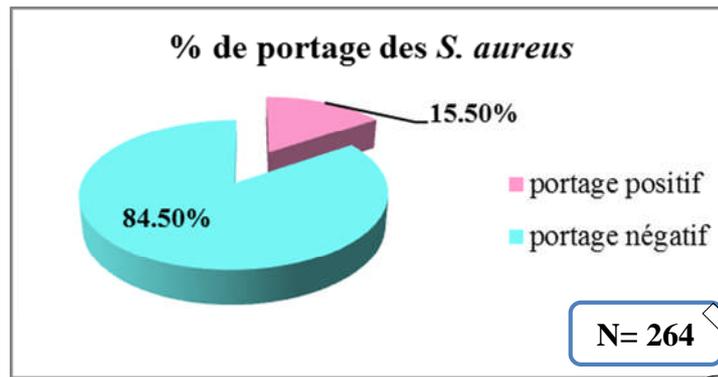


Figure 24 : Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus*

D'après ces résultats nous avons constaté que notre population d'étude présente un taux de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* de 15.5%.

I.4.1. Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* en fonction du sexe

Au total de 41 cas positifs, 18 sont issus à partir des patients de sexe masculin (43.9%) et 23 (56.1%) à partir des patients de sexe féminin (Tableau X).

Tableau X : Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* en fonction de sexe

Sexe	Effectifs	Fréquence
Masculin	18	43.9%
Féminin	23	56.1%
Total	41	100%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 26).

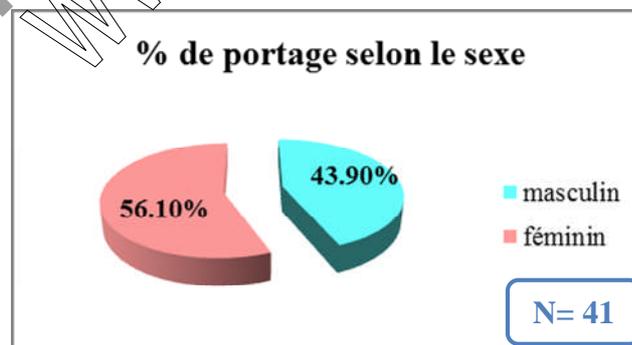


Figure 25 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de *S. aureus* en fonction du sexe

Ces résultats font ressortir une légère prédominance de portage nasal des *S. aureus* chez les patients de sexe féminin présentant un taux de 56.1% par rapport au 43.9% chez les patients de sexe masculins.

I.4.2. Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* selon l'âge

La répartition des cas positifs obtenus en fonction de l'âge est représentée dans le tableau XI

Tableau XI : Fréquence de portage nasal asymptomatique de *S. aureus* selon l'âge

Âge	Effectif	Fréquence
Enfants	17	41.5%
Adultes	24	58.5%
Total	41	100%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (figure 27).

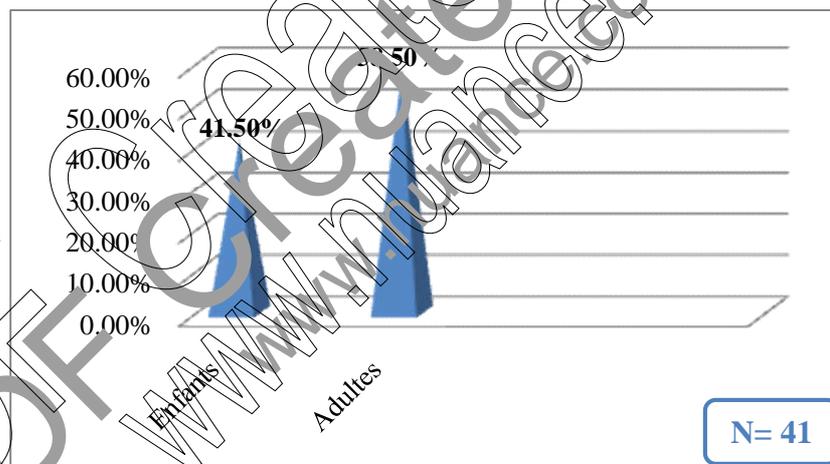


Figure 26 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de *S. aureus* selon l'âge

D'après ces résultats nous avons constaté une prédominance de portage nasal des *S. aureus* chez les adultes avec un taux de 58.5% contre 41.5% chez les enfants. Ceci peut être expliqué par l'effectif élevé des adultes prélevés par rapport aux enfants.

I.4.3. Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* en fonction des patients internes et externes

Au total de 41 cas positifs, 26 (63.4%) sont issus des patients hospitalisés (internes) et 15 (36.6%) sont issus des patients non hospitalisés (externes) (Tableau XII).

Tableau XII : Fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* en fonction des patients internes et externes

Hospitalisation	Effectifs	Fréquence
Patients hospitalisés	26	63.4%
Patients non hospitalisés	15	36.6%
Total	41	100%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 28).

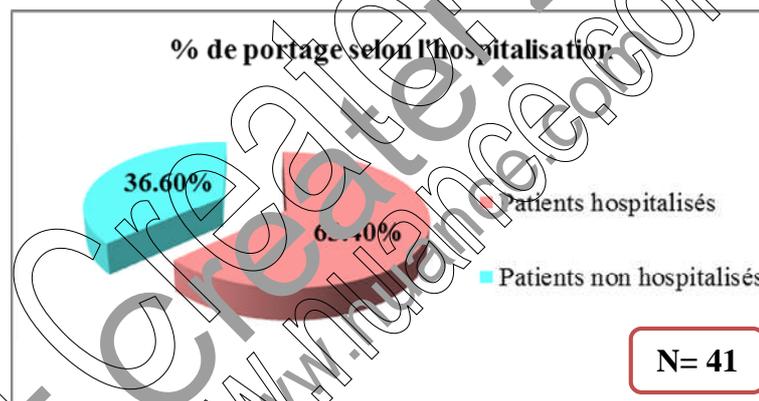


Figure 27 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de *S. aureus* en fonction des patients internes et externes.

Ces résultats font ressortir que le portage est plus important chez les patients hospitalisés par rapport aux externes, plus de la moitié des cas positifs (63.40%) sont issus des patients hospitalisés. Ceci peut être expliqué par l'effectif élevé des patients hospitalisés prélevés, de plus les patients hospitalisés sont des sujets plus ou moins immunodéprimés, donc leur flore commensale est perturbée permettant ainsi l'installation des germes pathogènes.

I.4.4. Etude de la résistance des souches de *S. aureus* isolées aux antibiotiques

Sur les 41 souches de *S. aureus* isolées, 10 souches ont été perdues à cause d'une rupture de la chaîne de froid, l'antibiogramme n'a pu être réalisé que pour les 31 souches restantes ; bien que un screening test à l'oxacilline a été fait pour ces 10 souches dont 4 ont été résistantes à la méticilline (SARM).

Le taux de résistance des souches isolées aux antibiotiques est représenté dans le tableau XIII

Tableau XIII : Profil de résistance des *S. aureus* isolés aux antibiotiques.

Antibiotiques	<i>S. aureus</i>	
	Nombre des souches résistantes	Fréquence
P	31	100%
OXA1	15	48.4%
FOX	15	48.4%
E	17	54.8%
DA	13	41.9%
TE	12	38.7%
CIP	7	22.6%
FA	5	16.1%
SXT	4	12.9%
CN	3	9.7%
AK	3	9.7%
RA	2	6.5%
PT	0	0%
C	0	0%
TEC	0	0%
VAN	0	0%

P : pénicilline G, **OXA** : Oxacilline, **FOX** : Céfoxitine, **TE** : Tétracycline, **CIP** : Ciprofloxacine, **RA** : Rifampicine, **CN** : Gentamicine, **SXT** : Sulfaméthoxazole, **E** : Erythromycine, **DA** : Clindamycine, **FA** : Acide fusidique, **AK** : Amikacine, **PT** : Pristinamycine, **C** : Chloramphénicol, **TEC** : Teicoplanine, **VAN** : Vancomycine
Ces résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (figure 29).

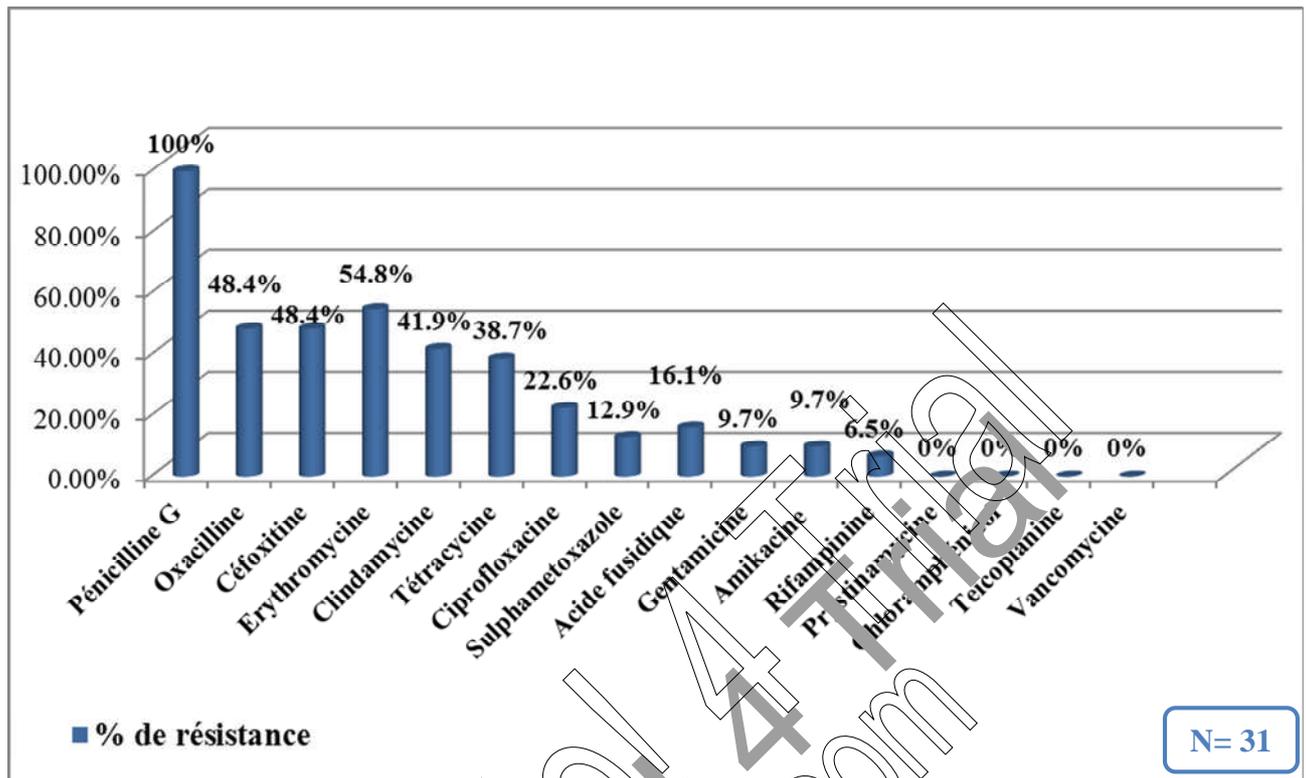


Figure 28 : Profil de résistance de *S. aureus* isolés aux antibiotiques.

L'analyse de ces résultats fait ressortir que la totalité des souches isolées (100%) présentent une résistance vis-à-vis de la pénicilline G (qu'il s'agit d'une résistance naturelle), une résistance importante à l'oxacilline est enregistré, dont presque la moitié des souches (48.4%) sont résistantes vis-à-vis de cet antibiotique. D'autre part, (54.8%) des *S. aureus* isolés sont résistants vis-à-vis des érythromycines, (41.9%) vis-à-vis des clindamycines et (38.7%) vis-à-vis des tétracyclines.

La résistance vis-à-vis des autres familles d'antibiotiques est moins importante, notant : 22.6% pour les ciprofloxacine, 16.1% pour les acides fusidiques, 12.9% pour les sulfaméthoxazoles, 9.7% pour les aminosides (gentamicine et amikacine) et 6.5% pour la rifampicine.

La pristinamycine, le chloramphénicol et les glycopeptides (tétracycline et vancomycine) sont actives sur la totalité des souches.

I.4.5. Phénotype de résistance des souches de *S. aureus* isolées aux antibiotiques

Les phénotypes de résistance des souches de *S. aureus* isolées sont représentés dans le tableau XIV.

Tableau XIV : Phénotype de résistance des *S. aureus* isolés aux antibiotiques.

Phénotype de résistance	Nombre de souches
P, OX1, FOX, CIP, RA, CN, AK, SXT, E, DA, FA	1
P, OX1, FOX, CIP, RA, CN, AK, SXT, E, DA	1
P, OX1, FOX, CIP, TE, E, DA, FA	1
P, OX1, FOX, CIP, CN, AK, SXT, E, DA	1
P, OX1, FOX, CIP, TE, E, DA	1
P, OX1, FOX, CIP, E, DA	1
P, OX1, FOX, TE, E, DA	1
P, OX1, FOX, TE, SXT, FA	1
P, OX1, FOX, E, DA	3
P, OX1, FOX, TE	1
P, OX1, FOX, TE	2
P, OX1, FOX, FA	1
P, E, DA	3
P, CIP, FA	1
P, E	4
P, TE	5
P	3

D'après ces résultats nous avons constaté que les phénotypes de résistance des isolats aux antibiotiques sont variables, les souches de *S. aureus* présentant une résistance à l'oxacilline (SARM) présentent les phénotypes de résistance les plus importants par rapport aux souches sensibles (SASM), dont 4 souches sont résistantes à au moins 8 antibiotiques avec une souche présente une résistance vis-à-vis de 11 antibiotiques (**P, OX1, FOX, CIP, RA, CN, AK, SXT, E, DA, FA**) soit résistante aux plus des deux tiers des antibiotiques testés, les autres souches sont résistantes à au moins 2 familles d'antibiotiques : β -lactamine et macrolide (**P, OX1, FOX, E, DA**), β -lactamine et tétracycline (**P, OX1, FOX, TE**), β -lactamine et acide fusidique (**P, OX1, FOX, FA**), β -lactamine, tétracycline,

sulfaméthoxazole et acide fusidique (**P, OX1, FOX, TE, SXT, FA**). En ce qui concerne les souches de SASM, en plus de la résistance à la pénicilline G, elles présentent une résistance vis-à-vis d'une ou deux familles d'antibiotiques comme les tétracyclines (**P, TE**) qui est le phénotype le plus prédominant (5 souches), les macrolides (**P, E, DA**), avec une souche seulement présente le phénotype (**P, CIP, FA**), d'autre part, 3 souches ne sont résistantes que vis-à-vis des pénicillines G qu'il s'agit d'une résistance naturelle.

I.5. Fréquence des souches résistantes à la méticilline (SARM)

Sur les 41 souches de *S. aureus* isolées, et après avoir fait un screening test à l'oxacilline 19 souches (46.3%) se sont avérées résistantes à la méticilline (SARM) et 22 (53.7%) sensibles à la méticilline (SASM).

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en anneau (figure 30)

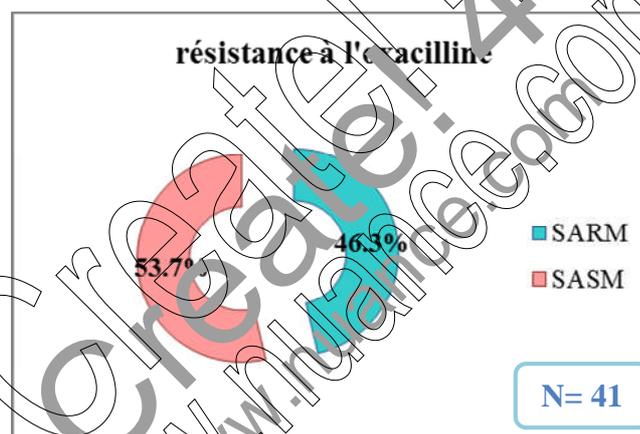


Figure 29 : Fréquence des souches résistantes à la méticilline (SARM)

I.5.1. Fréquence de portage nasal asymptomatique de SARM en fonction du sexe

Sur les 19 souches résistantes à la méticilline, 13 sont issus à partir des patients de sexe masculin (68.4%) et 6 (31.6%) à partir des patients de sexe féminin.

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 31).

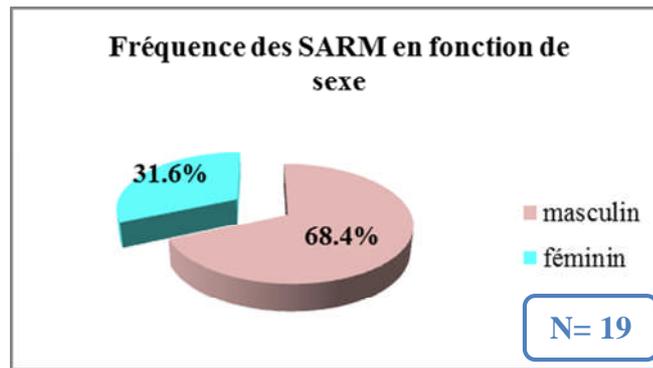


Figure 30 : Fréquence de portage nasal asymptotique des SARM en fonction du sexe.

Les résultats obtenus font ressortir une prédominance de portage nasal de SARM chez les patients de sexe masculin avec un taux de 68.4% contre 31.6% chez les patients de sexe féminin.

I.5.2. Fréquence de portage nasal asymptotique de SARM selon l'âge

La répartition des cas positifs obtenus en fonction de l'âge est représentée dans le tableau XV

Tableau XV : Fréquence de portage nasal des SARM selon l'âge

Sexe	Effectifs	Fréquence
Enfants	8	42.1%
Adultes	11	57.9%
Total	19	100%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (figure 32)

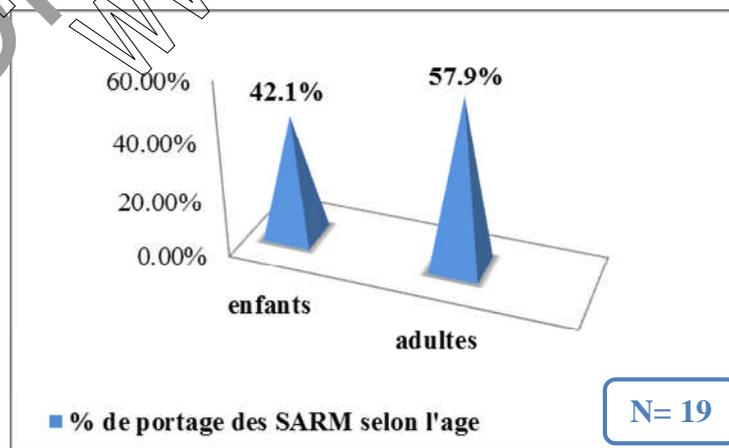


Figure 31 : Fréquence de portage nasal des SARM selon l'âge.

D'après ces résultats nous avons constaté une prédominance de portage nasal de SARM chez les patients adultes avec un taux de 57.9% contre 42.1% chez les enfants. Ceci peut être expliqué par l'effectif élevé des adultes prélevés par rapport aux enfants.

I.5.3. Fréquence de portage nasal asymptomatique de SARM en fonction des patients internes et externes

Sur les 19 cas positifs, 13 (68.4%) sont issus à partir des patients hospitalisés et 6 (31.6%) sont issus à partir des patients externes.

Ces résultats sont représentés sous forme d'un diagramme en fromage (figure 33)

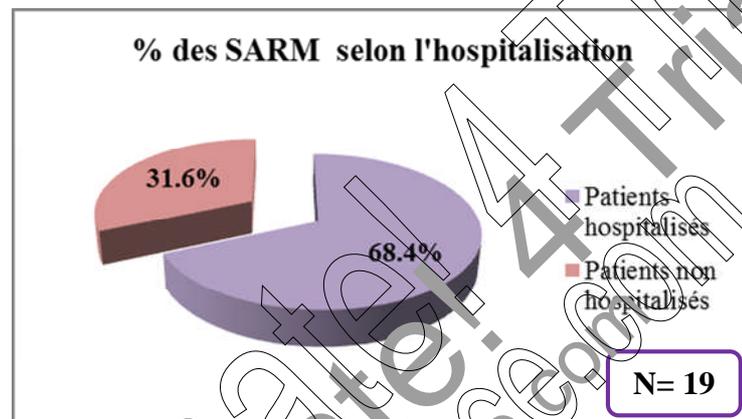


Figure 32 : Fréquence de portage nasal asymptomatique de SARM en fonction des patients internes et externes.

L'analyse de ces résultats fait ressortir une prédominance de portage nasal asymptomatique de SARM chez les patients hospitalisés (plus des 2/3 des cas positifs). Ceci peut être expliqué par l'effectif élevé des patients hospitalisés prélevés, de plus, les malades hospitalisés sont des sujets plus ou moins immunodéprimés, donc leur flore commensale est perturbée permettant ainsi l'installation des germes pathogènes.

I.5.4. Etude de la résistance des souches de SARM aux antibiotiques

Les taux de résistance des souches isolées de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) aux antibiotiques sont représentés dans le tableau XVI.

Tableau XVI : Profil de résistance des souches de SARM aux antibiotiques

Antibiotiques	SARM	
	Nombre des Souches résistantes	Fréquence
P	15	100%
OXA1	15	100%
FOX	15	100%
E	10	66.7%
DA	10	66.7%
TE	7	46.7%
CIP	6	40%
SXT	4	26.7%
FA	4	26.7%
CN	3	20%
AK	3	20%
RA	2	13.3%
PT	0	0%
C	0	0%
TEC	0	0%
VAN	0	0%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (figure34).

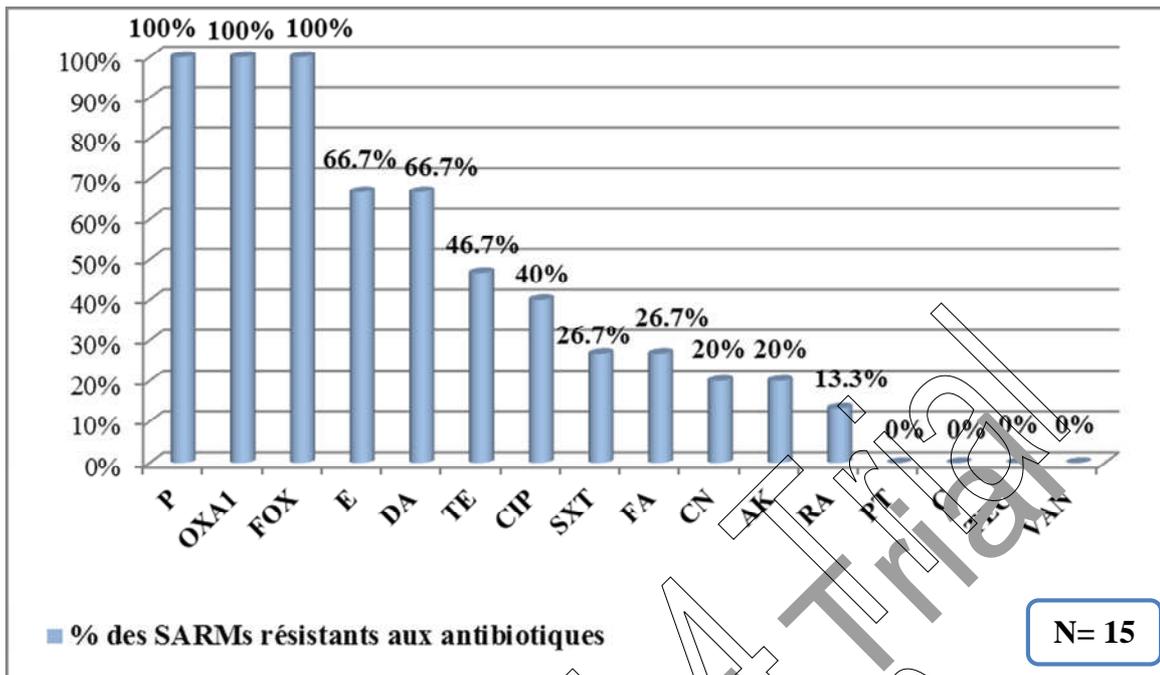


Figure 33 : Profil de résistance des souches de SARM aux antibiotiques.

L'analyse de ces résultats confirme la résistance des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) à la totalité des β -lactamines, ainsi que leur multi-résistance. Toutes les souches de SARM isolées présentent une résistance vis-à-vis de la totalité des β -lactamines (100% pour la pénicilline G, l'oxailline et la cefoxitine), les deux tiers (66.7%) sont résistants vis-à-vis des macrolides (érythromycines et clindamycines), un taux important de résistance est observé vis-à-vis des tétracyclines (46.7%) et des ciprofloxacines (40%), suivi de 26.7% pour les acides fusidiques et les sulfaméthoxazoles.

D'autre part 2 souches (20%) sont résistants vis-à-vis des aminosides (gentamicine et amikacine) et 2 souches (13.3%) sont résistants vis-à-vis des rifampicines.

Le pivestramycine, le chloramphénicol et les glycopeptides sont actives sur la totalité des SARM.

I.6. Etude de la résistance des souches de SASM aux antibiotiques

Les taux de résistance des souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline (SASM) aux antibiotiques sont représentés dans le tableau XVII.

Tableau XVII : Profil de résistance des souches de SASM aux antibiotiques

Antibiotiques	SASM	
	Nombre des Souche résistantes	Fréquence
P	16	100%
OXA1	0	0%
FOX	0	0%
E	7	43.8%
DA	3	18.8%
TE	5	31.3%
CIP	1	6.3%
SXT	0	0%
CN	0	0%
AK	0	0%
FA	1	6.3%
RA	0	0%
PT	0	0%
C	0	0%
TEC	0	0%
VAN	0	0%

Ces résultats sont représentés sous forme d'un histogramme (figure 35)

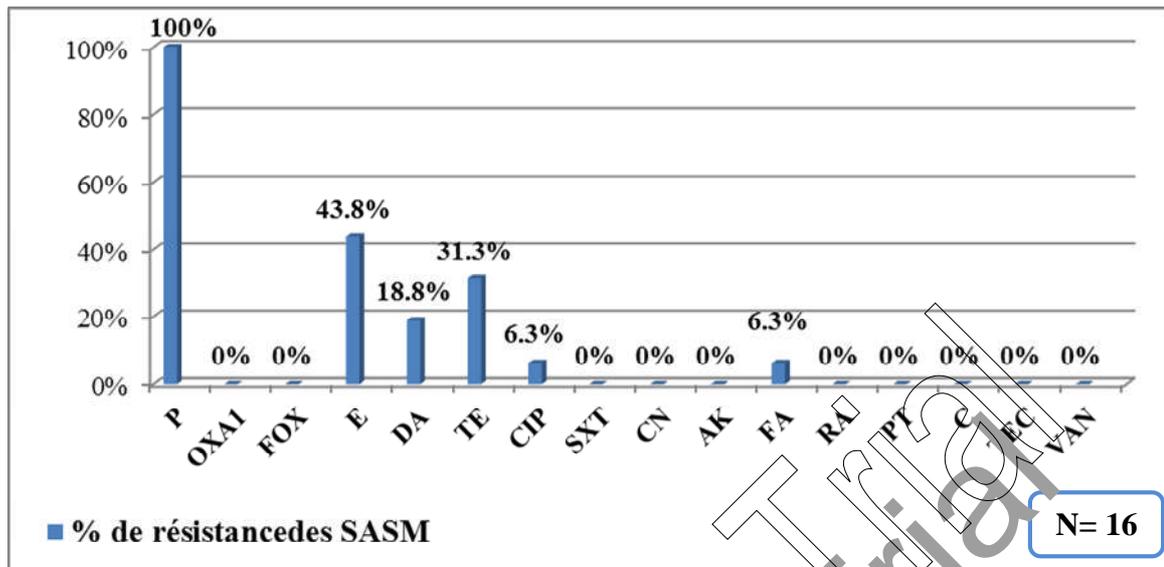


Figure 34 : Profil de résistance des souches de SASM aux antibiotiques.

L'analyse de ces résultats fait ressortir que la résistance des souches des SASM aux antibiotiques est nettement moins importante par rapport à celui des SARM.

- Pour les β - lactamines : la totalité des souches de SASM sont résistantes à la pénicilline G (qu'il s'agit d'une résistance naturelle)
- Pour les autres familles d'antibiotiques : la résistance est de 43.8% vis-à-vis des érythromycines, 18.8% vis à vis les clindamycines, 31.3% vis-à-vis des tétracyclines et 6.3% vis-à-vis des acides fusidique et des ciprofloxacines.
- Pour les antibiotiques restants (aminosides, rifampicines, sulfaméthoxazoles, pristinamycines, chloran phénicols, et glycopeptides) : une sensibilité totale est observée.

II. Discussion

Notre étude sur le portage asymptomatique de *Staphylococcus aureus* dans les cavités nasales concerne une population humaine de 264 individus ne souffrant d'aucune pathologie infectieuse. La fréquence de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* est estimée de 15.5%, soit proche à celui trouvé par Shirivasan *et al.* (2009) en Inde (16%) et au Nigeria (14%) par Bamiro *et al.* (2009), et celui trouvé par Diallo (2006) au Mali (20%). Mais ce taux est moins important par rapport à celui trouvé en Algérie par Benkemouche *et al.* (2009) qui ont enregistré un taux de 63% et aux Etats unis (35%) par Wertheim *et al.* (2006) et (28.6%) par Aswani et Shukla (2011).

Le taux de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* est variable en fonction de la population étudiée, un taux de « 33% » est enregistré par Cavallo *et al.* (2007) en France dans une population de jeunes incorporés dans la marine nationale. Au Liban, le taux de portage est estimé de « 39% » chez des travailleurs dans le secteur alimentaire (Hamzé *et al.*, 2008) et de « 30.7% » en milieu scolaire (Berthouly *et al.*, 2013). D'autre part, un taux de « 40.8% » est enregistré en Brésil dans une population d'étudiants universitaires (Garcia *et al.*, 2010) et « 44.45% » au Maroc dans une population des hémodialysés (Souly *et al.*, 2011). Le taux de portage est arrivé à 15.5% chez le personnel soignant hospitalier à Abidjan (Akoua-Koffi *et al.*, 2004). Ce que nous avons constaté dans notre étude que les personnes hospitalisés portent plus fréquemment les *S. aureus* dans leurs cavités nasales présentant un taux de 61.4% contre 36.6% chez les non hospitalisés.

Dans notre étude une légère prédominance de portage nasal asymptomatique des *S. aureus* est observée chez les patients de sexe féminin (56.1% contre 43.9% chez les patients de sexe masculin) touchant beaucoup plus la population adulte (58.5% contre 41.5% chez les enfants), ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Diallo (2006), par contre selon Cavallo *et al.* (2007) le portage est indépendant du sexe, et selon Bertholom (2009) et Wertheim *et al.* (2005) le portage est prédominant chez les sujets jeunes de sexe masculin.

L'étude de la résistance des *S. aureus* isolés aux antibiotiques a montré une résistance importante vis-à-vis des β -lactamines (100% pour les pénicillines G, 48.4% pour l'oxacilline). Selon Diallo (2006), Cavallo *et al.* (2007), Hamzé *et al.* (2008) et Garcia *et al.* (2010) presque la totalité des souches sont résistantes à la pénicilline G, qu'il s'agit d'une résistance naturelle, mais la résistance à l'oxacilline est moins importante : « 3% » des

souches isolées (Diallo, 2006), une souche seulement, soit « 0.6% » (Cavallo et *al.*, 2007), « 6.5% » par Hamzé et *al.* (2008) et « 5.8% » par Garcia et *al.* (2010).

Un taux important de résistance est observé pour d'autres familles d'antibiotiques, notant 54.8% vis-à-vis des érythromycines, 41.9% vis-à-vis des clindamycines et 38.7% vis-à-vis des tétracyclines, soit important à celui trouvé par Hamzé et *al.* (2008) dont l'étude de la sensibilité des isolats aux antibiotiques a montré que (11.7%) sont résistants à l'érythromycine et 14.3% sont résistants aux tétracyclines. Par contre selon Diallo (2006), la résistance aux macrolides (érythromycines et clindamycines) est faible (6%), mais la résistance aux tétracyclines est très importante (71%).

Une résistance de bas niveau est enregistrée vis-à-vis des antibiotiques restants (22.6% pour les ciprofloxacines, 16.1% pour les acides fusidiques, 12.9% pour les sulfaméthoxazoles, 9.7% pour les aminosides et 6.5% pour les rifampicines). Ces résultats sont importants à ceux trouvés par Garcia et *al.* (2010) dont la résistance vis-à-vis des ciprofloxacines est estimée de 8.8%, à l'amikacine 4%, avec une sensibilité totale vis-à-vis des gentamycines et des sulfaméthoxazoles, et ceux trouvés par Diallo (2006) dont 2% des souches isolées sont résistantes vis-à-vis des aminosides et des sulfaméthoxazoles et 1% vis-à-vis des ciprofloxacines.

Concernant les pristinamycines, les chloramphénicols et les glycopeptides, une sensibilité totale est observée. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Garcia et *al.* (2010), par contre selon Diallo (2006), 5% des isolats sont résistants vis-à-vis des vancomycines.

Les phénotypes de résistance de nos isolats aux antibiotiques sont variables, ils sont d'importance particulière pour les souches de SARM par rapport aux SASM. La résistance à l'oxacilline est souvent associée à d'autres familles d'antibiotiques comme les macrolides, les tétracyclines, les aminosides, les acides fusidiques et les rifampicines. Ceci peut être expliqué par l'utilisation fréquente de ces antibiotiques dans la thérapie des infections staphylococciques qui a favorisé l'émergence des souches multirésistantes. D'autre part, en ce qui concerne les SASM, une prédominance de phénotype (**P, TE**) est constaté, suivi des phénotypes (**P, E**), (**P, E, DA**) et (**P, CIP, FA**), avec 3 souches résistantes uniquement vis-à-vis des pénicillines G qu'il s'agit d'une résistance naturelle.

Dans notre étude, la résistance à la méticilline est estimée de « 46.3% », soit très important à celui trouvé par Beyrouthy et *al.* (2013) où les SARM représentent « 8.8% » des isolats, Boisseau et *al.* (2012) « 2.4% », Aswani et Shukla (2011) « 1.5% », Garcia et

al. (2010) « 5.8% », Benkemouche et *al.* (2009) « 27% », Diallo (2006) « 2% » et Akoua-Koffi et *al.* (2004) « 17.6% ».

Le portage nasal de SARM dans notre étude est prédominant chez les individus adultes de sexe masculin, avec un taux plus élevé (plus des 2/3 des cas positifs) chez les patients hospitalisés. Selon Giraud et *al.* (2004), le taux de portage nasal de SARM est estimé de « 18.5% », il est indépendant de l'âge, mais une légère prédominance est observée chez les sujets hospitalisés, de sexe masculin.

L'analyse globale de la résistance des SARM aux antibiotiques confirme leur caractère multirésistant, selon **Leclercq (2002)**, les SARM sont connus par leur aptitude à résister à plusieurs autres familles d'antibiotiques.

La résistance à la méticilline est souvent associée à celle des macrolides (66.7%), des tétracyclines (46.7%), des ciprofloxacine (40%), des acides fusidiques (26.7%), des sulfaméthoxazoles (26.7%), et des aminosides (20%).

Cette multirésistance est expliquée à l'échelle moléculaire par Corne (2004), par le fait que les cassettes chromosomiques qui portent le gène *mecA*, codent pour la multirésistance, véhiculent des copies de plasmide responsables de la résistance à d'autres familles d'antibiotiques.

En ce qui concerne les SASM, elles représentent un taux de 53.7% de l'ensemble des souches de *S. aureus* isolées au cours de notre étude, soit similaire à celui trouvé par Boisseau et *al.* (2012) qui sont arrivés à isoler un taux important de SASM correspond à 34.4%.

La résistance des SASM aux antibiotiques est nettement moins élevée que celle des SARM. Mais nous notons que malgré la sensibilité à la méticilline, 43.8% des isolats sont résistants vis-à-vis des érythromycines, 18.7% vis-à-vis des clindamycines, 31.3% vis-à-vis des tétracyclines et 6.3% vis-à-vis des acides fusidiques et des ciprofloxacines.

Enfin, la dissémination de ces souches de *S. aureus* dans notre milieu pose un grand problème, et peut conduire à des infections sévères, dues à des souches multirésistantes. Pour cela, une politique rigoureuse doit être adoptée et respectée dans notre environnement, afin de réduire la dissémination de ces souches.

Conclusion

Et

Recommandations

PDF Create PDF
www.nuance.com

Conclusion

Au terme de notre étude effectuée dans une période de 06 mois au niveau de laboratoire central de l'EPH de Boufarik, 264 échantillons ont fait l'objet d'une étude bactériologique pour la recherche des *S. aureus* dans les cavités nasales des patients, pris au hasard, ne souffrant d'aucune pathologie infectieuse. La fréquence de portage nasal asymptomatique de *S. aureus* est estimée de 15.5%, dont 46.3% % sont résistants à la méticilline (SARM).

Nous avons constaté que :

- Le portage nasal des *S. aureus* est prédominant chez les patients adultes de sexe féminin, dont l'hospitalisation joue un rôle favorisant ;
- L'analyse de la sensibilité des isolats vis-à-vis des antibiotiques, fait ressortir une importance de la fréquence des souches de *S. aureus* présentant une multi-résistance à diverse familles d'antibiotiques utilisés souvent en thérapie anti-staphylococciques ;
- Les SARM représentent un pourcentage élevé (46.3%) des *S. aureus*, dont ils sont isolés plus fréquemment chez les patients hospitalisés, de sexe masculin ;
- L'analyse de la résistance des souches de SARM aux antibiotiques a confirmé leur caractère multi-résistant, la résistance à la méticilline est souvent associée à celle des macrolides, tétracyclines, ciprofloxacines, sulphaméthoxazoles, aminosides et acides fusidiques ;
- Les souches de SASM représentent 53.7% des *S. aureus*, leur résistance aux antibiotiques est nettement moins importante que celle des SARM.

Aucune souche de nos isolats n'a été résistante vis-à-vis des pristinaamycines, des chloramphénicolés et des glycopeptides.

Recommandations

Aujourd'hui, les *S. aureus* et surtout les SARM posent un grand problème en pathologie humaine de parts de leur virulence et leur résistance aux antibiotiques.

Les porteurs sains des *S. aureus*, constituent non seulement un réservoir pour ces bactéries, mais surtout une source de leur dissémination dans l'environnement. De ce fait, une politique rigoureuse doit être adoptée et respectée pour bien contrôler la diffusion de ces souches de *S. aureus*, notamment les SARM dans notre environnement, et donc réduire le risque d'arrivée des infections staphylococciques. Pour cela, il est recommandé de :

- Procéder à des dépistages périodiques surtout en cours d'hospitalisation
- Isoler les porteurs des SARM qui doivent subir aux règles de décolonisation ;
- Dépister les personnels soignants, dont les porteurs de SARM doivent être exclus de contact direct avec les patients, et subir aux règles de décolonisation ;
- Le port des gants et des blouses par les personnels soignants, afin d'éviter d'être contaminer et de contaminer d'autres personnes (surtout transmission des SARM entre malades hospitalisés)
- Le respect des mesures d'hygiène, que ce soit à l'hôpital ou dans la communauté.

Références bibliographiques

- 1) Akoua- koffi C., Dje K., Touré R., Guessennd N, Acho B., Faye-ketté H., Loukou Y.G, Dosso M. (2004). Portage nasal de *Staphylococcus aureus* métricillino résistant chez le personnel soignant hospitalier à abidjan (côte d'ivoire). Médecine Tropicale • 2004 • 64 • 2 : 205-207.
- 2) Aswani V.-H. et Shukla S.-K. (2011). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and Lack of Its Lytic Bacteriophages in the Anterior Nares of Patients and Healthcare Workers at a Rural Clinic. Clinical Medicine & Research Volume 9, Number 2: 75-81
- 3) Avril J- L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H. (2000). Bactériologie clinique 2^{ème} édition Ellipses Paris. 511 p. pp 8-28
- 4) Bamiro B.S., Adesida S.A., Abioye O.A., Brai B.I., Smith S.I., Amisu K.O., et al. (2007). Associated risk factors and pulsed field gel electrophoresis of nasal isolates of *Staphylococcus aureus* from medical students in a tertiary hospital in lagos, nigeria. Braz. J. Infect. Dis 2007; 11(1):63–69. [PubMed: 17625730]
- 1) Baravalle M. David M, Bosser F, Gorincour G, Rolain J.-M. (2011). Evolution inhabituelle d'une bronchite aiguë à virus respiratoire syncytial chez un nourrisson (Elsevier Masson SAS, France). Doi 10.1016 :156-159
- 2) Batard E. et Potel G. (2006). Thérapeutique des infections à Staphylocoques EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-007-B-10.
- 3) Batard E. El kochi D., et Potel G. (2007). infections à staphylocoques : aspect clinique et bactériologique. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-007-A-10.
- 4) Beaudeau L. (2009). Mesure de prévention et de contrôle des infections à *Staphylococcus aureus* résistante à la métricilline (SARM) dans les milieux de réadaptation. Québec ; 81 p. <http://www.inspq.qc.ca>.
- 5) Benkemouche I., Taibi L., Bouharati D., Ammar Khodja A., Benkaidali I., Antri K., Ziane H., Ramdani H., Tazir M., Taleb F., Benhabiles B. (2009). Infections nosocomiales : étude préliminaire. Elsevier Masson SAS, France. Annales de dermatologie et de vénériologie 136S, F13-F48
- 6) Beraud J. (2004). le technicien d'analyses biologiques, Guide théorique et pratique. Edition Tec and Doc Lavoisier, Londre – Paris – Newyork. 2080 p. pp (964-971)

- 7) **Berche P. (2003).** Bactériologie Systématique : les Staphylocoques, Faculté de Médecine Necker-Enfants malades. 94 p. pp (12-19).
- 8) **Berthelot P. (2011).** Infection associées aux soins à *Staphylococcus aureus*, Prévention des infections endogènes, Saint-Etienne. Journées régionales Hygiène Beurdeau ; 1-18.
- 9) **Bertholom C. (2009).** le portage nasal à *Staphylococcus aureus*. Option Bio, n° 421 p.13.
- 10) **Bes M. et Brun Y. (2002).** *Staphylococcus* : Actualités Taxonomiques et Identification. Elsevier, Paris. Revue française des laboratoires N° 343 ; 23-30.
- 11) **Beyrouthy R., Hamzé M., Hleis S., Mallat H., Dabboussi F. (2013).** Panton-Valentine leukocidin producing *Staphylococcus aureus* nasal carriage, in North-Lebanon. Elsevier Masson SAS France. Médecine et maladies infectieuses : MEDMAL-3434; No. of Pages 5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2013.07.005>
- 12) **Boisseau D., Alfandari S., Gauzit R., Richard C., Stahl J.-P. (2012).** *Staphylococcus aureus* nasal carriage during the infectious diseases national congress in France. Elsevier Masson SAS France. Médecine et maladies infectieuses 42 : 435-439.
- 13) **Botelho-Nevers E. (2013).** Perspectives d'éradication du portage de *Staphylococcus aureus*: pour qui?. 14^{ème} journées nationales d'infectiologie. Service de Maladies Infectieuses et Tropicales. Saint-Etienne. pp (1-14).
- 14) **Bowman M-C., Wohl D-A., Kaplan A-H. (2011).** Infections staphylococciques. Section X. maladies infectieuses. 91 ; 709-716.
- 15) **Bronzi A. (2005).** Antibiothérapie : principes généraux. Faculté de Médecine de Marseille. pp (1-11).
- 16) **Bulletin d'information [BD], (Septembre 2009).** Les Infections Associées aux Soins: prévention et réglementation. France. 1-9. www.bd.com
- 17) **Caby F., Bismuth R. et Bossi P. (2010).** Infections à staphylocoques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), traité de médecine Akos, 4-1045
- 18) **Carip C. (2008).** microbiologie Hygoène, Base microbiologique de la diététique. Edition Tec and Doc Lavoisier, paris. 424p
- 19) **Casamajor P. et Descroix V. (2009).** la prescription ciblée en odontologie Guide clinique. Edition Wolters Kluwer France. P (272), pp (29-30)
- 20) **Cavallo J.-D., Massit B., Chapalain J.-C., Brisou P., Garrabé E, Martinud C, Koeck J.-L., Marsan P., Lucas D., Verret C., Roman O., Todesco A., Migliani R.,**

- Spiegel A. (2007).** Portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez des jeunes incorporés de la marine nationale. BEH 43 ; 370-372
- 21) **CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. [CEAEQ] (2012).** Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* : Méthode par filtration sur membrane. MA. 700 – STA 1.0, Rév. 4, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2012, 19 p.
- 22) **Cheymol G. (1999),** pharmacologie intégrée. De Boek Université, Paris. 585p
- 23) **Clave D. et Archambaud M. (2009).** FICHE TECHNIQUE : *Staphylococcus aureus*. Fiche technique _ Bactériologie 093 EN.FTBAC. 10-10-11.01. P. 4-5.
- 24) **Corne P. (2004).** *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. France.175p.
- 25) **Courvalin P. et Leclercq R. (2012).** AntibioGramme. 3^e édition ESKA, Paris. pp (137-405).
- 26) **Daurel C. et Leclercq R. (2008).** L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. Infections à pneumocoque et à staphylococcus aureus. (Elsevier Masson SAS). Revue Francophone des laboratoires - n°407 :8 -9
- 27) **Decker C.F. (2008).** Pathogenesis of MRSA Infections. Dis Mon 54:774-779
- 28) **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse biologique ou de contrôle sanitaire. Edition TEC and DOC. Lavoisier. Paris. P 475, pp (357-384)
- 29) **Delorme C.; Duchesne J. Lussier JL (2011).** Guide d'utilisation des antibiotiques. 5^{ème} édition, Hôpital Charles LeMoigne, Québec. 189 p. pp (18-19).
- 30) **Demonfleur E., Laudat P., Jouannet C., Charron J., Chillou C., Salaun V., Mankikian B. (2012).** Dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) par biologie moléculaire (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, LightCycler Roche, Hplex Evigene I2A) versus dépistage par culture : stratégie economico-pratique pour le laboratoire. Elsevier Masson SAS France. Pathologie Biologie 60 (2012) 208–213.
- 31) **Denis F., Poly M-C., Martin C., Bingen E. et Quentin R., (2011).** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Edition Masson. 573 p.
- 32) **Diallo A.-B. (2006).** le Portage nasal de *Staphylococcus aureus* en milieu chirurgical à l'hôpital du Point G. Thèse Pharmacie, Bamako. 88 p.
- 33) **Ducel G., Fabry J. et Nicolle L. (2008).** Prévention des infections nosocomiales Guide pratique. 2^{ème} édition (OMS), Suisse. 71 pages p.5

- 34) **El Kouri D., Pottier M-A, Trewick D, Baron D., Potel G., Le Gallou F (1998).** Infections à staphylocoques : aspects cliniques et bactériologiques. EMC - Maladies infectieuses 1998;1-0 [Article 8-007-A-10].
- 35) **Eveillard M.; F.X. Lescure F.-X.; Eb F.; Schmit J.-L (2002).** Portage, acquisition et transmission de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en milieu communautaire. Conséquences en termes de politique de prévention et d'antibiothérapie. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. *Médecine et maladies infectieuses* 32 (2002) 717-724
- 36) **Fauchère J.-L. et Avril J.-L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. pp (213-217)
- 37) **Ferry T. et Timsit J.-F. (2009).** Infections à Staphylocoques. 44200-volume 4-1 : pp 1079-1086
- 38) **Flandrois J.-P. (1997).** Bactériologie médicale. Presse universitaire de Lyon (*pul*). Pp (107-113).
- 39) **Fleurette J. (1990).** Taxonomie et écologie des staphylocoques coagulase négatifs. *Médecine et Maladies Infectieuses* ; 6-1.
- 40) **Frank D.-N., Feazel L.-M., Merry F., Bessesen M. T., Price C.-S., Edward N. Janoff E.-N., Pace N.-R. (2010).** The Human Nasal Microbiota and *Staphylococcus aureus* Carriage. PLoS ONE 5 (5) e10598/doi:10.1371/journal.pone.0010598.
- 41) **Garcia L.-B., Pates K. A., Torres A.-M., Sueli Fumie Yamada Ogatta S.F.Y., Cardoso C.L., Tognim M.-C. S. (2010).** Nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in university students. Elsevier Editora Ltda, Braz J Infect Dis 2010;14(3): 316-318.
- 42) **Ghannou P., Léophonte P., Mouton Y. (1995).** La colonisation microbienne des voies respiratoires, Ed. John Libbey Eurotext. Paris, pp. 11-16.
- 43) **Géracfas et Rioufol M.-O. (2006).** Modules AS/AP aide soignant auxiliaire de puériculture Module 6 - Hygiène. Elsevier Masson SAS, Paris. pp. (7-11).
- 44) **Giraud K., Chatap G., Bastuji-Garin S., Vincent J.-P. (2004).** Impact de la colonisation nasale par le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline dans une unité de soins de suite gériatrique. *Masson, Paris. Presse Med* 2004; 33: 1497-501
- 45) **GlaxoSmithKline Inc. (2001).** Bactroban® (mupirocine) Pommade à 2 % Pour usage dermatologique, Numéro de contrôle : 072194. 28 p.
- 46) **Goubau P. et Van Gompel A. (2000).** Repères en Microbiologie. Vector sprl Garant Belgique. 391 p.

- 47) **Grundmann H., Sousa M. A., Boyce J., Tiemersma E. (2006).** Emergence and resurgence of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* vol 368:874-885.
- 48) **Hammami B. (2010).** Prévention des infections des sites opératoires chez les porteurs nasaux de *Staphylococcus aureus*, *Revue Tunisienne d'Infectiologie - Janvier 2010, Vol.4: 33 – 34*
- 49) **Hamzé M., M. Naja M. et Mallat H. (2008).** Analyses biologiques réalisées chez des travailleurs dans le secteur alimentaire au nord du Liban. *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale*, Vol. 14, No 6 ; 1425-1434.
- 50) **Havery R.-A.; Champe P.-C. and Fisher B.-D. (2007).** Microbiology 2nd edition. Lippincott Williams & Wilkins USA. 426p. pp (69-73)
- 51) **Hugard L. (2003).** Hygiène et soins infirmier. 2^e édition Groupe Liaison SA. Paris. pp (16-17).
- 52) **Leclercq R. (2002).** Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. *Ann Fr Anesth Réanim.* **21**: 375-383.
- 53) **Leyral G. et Vierling E. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité des aliments, 4^e édition- Puyil-Malmaison : Doin ; Bodreaux : CRDP d'Aquitaine. pp. (66-77)
- 54) **Longpré S. (2006).** Soins infirmier, partie 5 : fonctions respiratoires. Edition de Renouveau Pédagogique, Québec, Canada. 569 p.
- 55) **Lowy F.D. (1998).** *Staphylococcus aureus* infections. *The new england journal of medicine, Infectious Diseases*, **339**: 520–32
- 56) **Luce J. C., (2009).** Haut Conseil de la santé publique Commission spécialisée « Sécurité des Patients » infections nosocomiales et autres événements indésirables liés aux soins et aux pratiques ». Recommandations sur la prise en charge et la prévention des infections cutanées liées aux souches de *staphylococcus aureus* résistants à la méticilline communautaires (SARM Co). Pages 52 pp (19-37)
- 57) **Martin C. (2008).** Urgences et infections, guide du bon usage des antibiotiques, antifongiques, antiviraux, antiseptiques. Edition Wolters Kluwer France. P (249), pp (3-9)
- 58) **Massicote J. (2006).** Mesure de prévention et de contrôle des infections à *staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (SARM) au Québec. 2^{ème} édition – version intérimaire. 109 p. <http://www.inspq.qc.ca>

- 59) Meyer A., Deiana J. et Bernard A. (2004). cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. Doin editeurs Groupe Liaisons SA. France. 423p
- 60) Montcriol A., Reverdy M.-E., Koeck J.-L. (2003). Mécanismes et méthodes de détection de la résistance des *Staphylococcus aureus* aux glycopeptides. Dossier scientifique. Elsevier, Paris. Revue Française des laboratoires N° 352 ; 31-39.
- 61) Mulcahy M.E., Geoghegan J-A., Monk I-R., O’Keeffe K-M., Walsh E-J., et al. (2012). Nasal Colonisation by *Staphylococcus aureus* depends upon **Clumping Factor B** binding to the Squamous Epithelial Cell Envelope Protein Loricrin. PLoS Pathog 8(12): e1003092. doi:10.1371/journal.ppat.1003092
- 62) Nauciel C. et Vildé J.-L. (2005). Bactériologie médicale, connaissance et pratique. Masson S.A.S. paris. 256p. pp (77 80)
- 63) Netter F.H. (1997). Atlas d’anatomie humaine, Section I tête et cou. Maloine. Planche 34.
- 64) Nhan T.-X., Gillet Y. et Vandenesch F. (2012). Diagnostic et traitements des infections toxiques à *Staphylococcus aureus*. (Elsevier Masson SAS, France) ; Journal des Anti-infectieux (2012) 14, 117–126.
- 65) Papia G, Louie M, Tralla A, Johnson C, Collins V, Simor AE. (1999). Screening high-risk patients for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on admission to the hospital: is it cost effective? Infect Control Hosp Epidemiol; 20:473–7.
- 66) Parija S.C. (2009). Text book of microbiology and immunology. Elsevier, India. 669 p, pp 181-188
- 67) Pebret F. (2003). maladies infectieuses : Toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Edition HEURES. Paris. 247 p.
- 68) Khalil K ; Benslimani A. ; Tali-maamar H. ; Missoum M.F.K. ; Kechih-Boumar S. ; Ammari H. (2011). Standardisation de l’antibiogramme à l’échelle national en médecine humaine et vétérinaire selon les recommandations de l’OMS 6^{ème} édition.
- 69) Rambaud J-C., Buts J-P., Corthier G. et Flourié B. (2004). Flore microbienne intestinale Physiologie et pathologie digestives. John Libbey Eurotext, Paris. 245p
- 70) Schaechter, Medoff et Eisenstein, (1999). Microbiologie et pathologie infectieuse. 2^{ème} édition De Boeck. 973 pages.
- 71) Shirivasan M, Vinodhkumaradithyaa A, Uma A, Ananthalakshmi I, Nallasivam P, Thirumalaikolundusubramanian P. (2009). Nasal carriage of

- methicillin-resistant *staphylococcus aureus* among surgical unit staff. Jpn. J. Infect. Dis; 62(3):228–229. [PubMed: 19468188]
- 72) **Sivaraman K., Venkataraman N., and Cole A.-M. (2012).** *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage and its Contributing Factors. Future Microbiol. Author manuscript; available in PMC 15p.
- 73) **Sixou M. (2005).** Prescrire en odontologie. Edition Cdp-Groupe liaisons France.103p
- 74) **Souly K., Ait el kadi M., Lahmadi K., Biougnach H., Boughaidi A., Zouhdi M., Benasila S., Elyoussefi Z., Bouattar T., Zbiti N., Skalli Z., Rhou H., Ouzeddoun N., Bayahia R., Benamar L. (2011).** Epidemiology and prevention of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in hemodialyzed patients. EMC (Elsevier Masson SAS. France). Médecine et maladies infectieuses 41 469–474.
- 75) **Spicer W.-J. (2003).** pratique clinique en bactériologie, mycologie et parasitologie. Medecine – Science – Flammarion, Paris. 221 p. pp 163-29, 166-167).
- 76) **Tattevin P. (2011).** Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline(SARM) d'acquisition communautaire. EMC (Elsevier Masson SAS. France). Médecine et maladies infectieuses 41 (2011) 167–175
- 77) **Teyssou R., Koeck J.-L. et Buisson Y. (1997).** La flore cutanée. Revue française des laboratoires, N° 291, pp 49-55
- 78) **Van Belkum A, Verkak N.-J., de Vogel C.-P. ; Boelens H.-A., Verveer J., Nouwen J.-L. et al. (2009).** Reclassification of *Staphylococcus aureus* Nasal Carriage Types. The Journal of Infectious Diseases; 199:1820–6
- 79) **Vandenesch F. (2011).** Leucocidine de Panton Valentine : Facteur independant de gravité de pneumonies a *Staphylococcus aureus*. N° d'enregistrement de la recherche : 2010-A01132-37. Lyon pp 4-22
- 80) **Vandenesch F., Bes M. et Etienne J. (2007).** staphylocoques. EMC (Elsevier Masson SAS, paris. Encyclopédie médico-biologique, 90-05.0255.
- 81) **Vaubourdolle M. (2007),** Infectiologie. 3^e édition Wolters Kluwer SA Paris. 1011p
- 82) **Vincenot F., Saleh M. et Prévost G. (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Infections à pneumocoque et à *Staphylococcus aureus*. (Elsevier Masson SAS). Revue Francophone des laboratoires - N°407 pp 61-69
- 83) **Wertheim H. F. L., Margreet C., Alewijn, Kluymans Jan A.-J. W., Vandembrouche-Grauls C.M.J.E.; Meester M.H.M. and al., (2004).** Mupirocin

Prophylaxis against Nosocomial *Staphylococcus aureus* Infections in Nonsurgical Patients. *Annals of Internal Medicine*. Volume 140 • Number 6; 419-425.

- 84) Wertheim H. F. L., Van Leeuwen W., Vos M. C., Melles D.-C., Van Belkum A., Verbrugh H.A., Nouwen J.-L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 2005; **5**: 751-62.
- 85) Wertheim H. F., Van Kleef M., Vos M. C., Ott A., Verbrugh H. A., Fokkens W. (2006). Nose picking and nasal carriage of staphylococcus aureus. *Infection. Control. And. Hospital. Epidemiology. The. Official Journal Of The Society Of Hospital Epidemiologists Of America*; 27(8):863–867. [PubMed: 16874648]
- 86) Whitman W.-B. (2009). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition, Volume Three the Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 1319 p.
- 87) Yala D.; A.S. Merad A.S.; Mohamedi Y.; Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Medicine du Maghreb* 2001 n°91. pp (5-12).
- 88) Zitouni Imounachem M. (2010). Les pénicillines. Spécialités sous la loupe. *L'Officinal N° 83* : 47-50.

Annexes

PDF Creator!
www.nuance.com

Annexe 01 : fiche d'inclusion

Fiche d'inclusion

- N°d'ordre :
- Nom :
- Prénom :
- Age :
- Service :
- Date de prélèvement : ... / ... / ...
- Hospitalisation : Oui Non
- Renseignement clinique :
- Traitement d'antibiotique : Oui Non
- Famille d'antibiotique :
- Dose administrée :

Annexe 02 : Matériel non biologique

Tableau XVIII : verreries et appareillages

Verrerie et autres	Appareillage
<ul style="list-style-type: none"> - Boite de pétri - Ecouvillons en coton stériles - Lames et lamelles - Pipettes pasteurs stériles - Pincés métalliques - Poire d'aspiration - Micropipette - Embouts - Seringue stérile - Tubes à essai stériles - Tubes secs stérile - Portoirs pour les tubes - Compresse stérile - Gants jetables, Blouse de laboratoire - Etiquettes, Marqueurs, Registres - Conteneur pour l'élimination des déchets 	<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur - Bain-marie - Balance - Bec bunsen - Densitomètre. - Etuve à 37°C - Etuve à CO₂ - Microscopie optique - pied à coulisse - Spinell - Réfrigérateur à 4°C - Séchoir

Tableau XIX : Milieux de culture, réactifs et solution

Milieu de culture	Réactifs et solution
<ul style="list-style-type: none"> - Bouillon nutritif BHIB - Sérologie Chapman - Gélose nutritive - Gélose au sang frais (GSF) - Gélose au sang cuit (GSC) - Gélose à l'ADN - Gélose Mueller-Hinton (MH) - Gélose Mueller-Hinton + 4% NaCl - Gélose de conservation 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau physiologique stérile à 0.9% - Eau distillée stérile - Eau de javel et liquide désinfectant - Eau oxygénée - Violet de gentiane, Fushine, Lugol, Alcool - Acide chloridrique - Huile à immersion

Annexe 03 : Composition des principaux milieux de culture utilisés en g/l d'eau distillée.

Bouillon Cœur-cerveille (BHIB)

Composition	Figure
- Infusion de cervelle de veau..... 12.5 g - Infusion de cœur de bœuf..... .5.0 g - Peptone..... 10.0 g - Glucose 2.0 g - Chlorure de sodium5.0 g - Phosphatase disodique......2.5 g pH= 7.4 ± 0.2	

Gélose Chapman :

Composition	Figure
- Extrait de viande de bœuf.....1g - Chlorure de sodium.....75g - Peptone.....10g - Mannitol.....10g - Rouge de phénol.....0.025g - Agar15g pH=7.4	

Gélose Nutritive (GN).

Composition	Figure
- peptone5g - extrait de viande de bœuf3g - Extrait de levure2g - Chlorure de sodium5g - Agar15g pH 7.4 ± 0.2	

Gélose au sang frais :

Composition	Figure
-Infusion de cœur et muscle.....375g -Biothicone.....10g -Chlorure de sodium.....5g -Gélose.....15g - Sang de mouton.....5% pH=7.3	

Gélose au sang cuit

Composition	Figure
-Polypeptone.....15g -Amidon de maïs.....1g - Phosphate dipotassique.....4g - Phosphate monopotassique.....1g - Chlorure de sodium.....5g - Hémoglobine10g - Gélose.....10g pH=7.2	

Gélose Muller-Hinton

Composition	Figure
-infusion de viande de bœuf300g -hydrolysate de caséine.....17.5g -amidon.....1.5g -gélose.....10g pH= 7.4	

Gélose Muller-Hinton + 4%NaCl

Composition	Figure
M H Agar..... 38.0 g NaCl..... 40.0 g Eau distillée.....1000 ml pH= 7.4	

Gélose à l'ADN

Composition	Figure
Tryptose.....20g Acide désoxyribonucléique.....2g Chlorure de sodium.....5g Agar.....12g pH 7,3 ±(0,2)	

Gélose pour la conservation des souches

Composition	Figure
- Extrait de viande5g - Peptone10g - Chlorure de sodium.....5g - Agar10g pH=7.3	

Annexe 04 : Détection de la résistance à l'oxacilline des souches de *S. aureus* par la mise en évidence de la PLP2a (ou PBP')

Il existe plusieurs réactifs commercialisés :

- SLIDEX MRSA detection : BioMerieux (ref : 73117)
- PBP' test: OXOID (ref: DR0900A)

Principe: (BioMérieux)

- Les particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal dirigé contre la PBP' vont réagir après extraction spécifiquement avec *S. aureus* méticillino-résistant (MRSA) entraînant l'apparition d'une agglutination visible à l'œil nu.
- Les souches de *S. aureus* sensible à la méticilline (MSSA) n'agglutinent pas les particules de latex.

Technique

• **Extraction**

- Mettre 4 gouttes du réactif d'extraction 1 dans un tube pour microcentrifugeuse.
- Prélever 3 öses pleine de culture (öse calibrée de 1 µl)
- Décharger ces öses dans le liquide d'extraction 1.
- Fermer le tube à l'aide d'un bouchon.
- Mettre ce tube dans un bain-marie bouillant à une température comprise entre 95 et 100°C pendant 3 mn.
- Retirer le tube et laisser refroidir à température ambiante.
- Ajouter une goutte du second réactif d'extraction puis homogénéiser la suspension.
- Centrifuger à 1500g pendant 5mn.
- L'agglutination se fera à partir du surnageant.

• **Agglutination**

- Ajouter une goutte de latex sensibilisé (par un anticorps monoclonal anti-PBP') dans le cercle test puis déposer 50 µl du surnageant (extrait de culture).
- Bien mélanger le tout à l'aide d'un bâtonnet, en étalant le mélange sur toute la surface.
- Répéter cette technique d'agglutination pour le latex contrôle négatif.
- Donner à la carte, un léger mouvement de rotation manuellement ou à l'aide d'un agitateur rotatif pendant 3 mn.
- Observation : l'apparition éventuelle d'une agglutination.

- **Lecture**

- Présence d'agglutination : le test est positif : présence de PBP' (**MRSA+**)
- Absence d'agglutination : le test est négatif : absence de PBP' (**MRSA-**)

Annexe 05

Tableau XX : valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Pénicilline	10µl	≤28	---	≥29
Oxacilline	1µg	≤10	11-12	≥13
Céfoxitine	30µg	≤21	---	≥22
Gentamicine	10µg	≤12	13-14	≥15
Kanamycine	30µg	≤13	14-17	≥18
Amikacine	30µg	≤14	15-16	≥17
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23
Clindamycine	2µg	≤14	15-20	≥17
Vancomycine	CMI	---	---	---
Teicoplanine	30µg	≤10	11-13	≥14
Ofloxacine	5µg	≤14	15-17	≥18
Triméthoprime+ sulfaméthoxazole	25/23/75	≤10	11-15	≥15
Rifampicine	5µg	≤16	17-19	≥20
Tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18
Pristinamycine*	15µg	<19	19-21	≥22
Acine fusidique*	10µg	<24	---	≥24
Fosfomycine *	50µg	<14	---	≥14

(*) : La suspension bactérienne à 0.5 McF doit être diluée à 1/100^{ème}.