

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et de la Physiologie Cellulaire
LABORATOIRE DE RECHERCHE : BIOTECHNOLOGIES,
ENVIRONNEMENT ET SANTE

Mémoire de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : « Microbiologie »

Thème :

Isolement, identification et étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées à partir de différents types de prélèvement au CHU Nafissa - Hamoud (Parnet) Alger.

Soutenu le : 08/07/2020

Réalisé et présenté par :

M^{elle} Menadi Soumaya

M^{elle} Menai Lynda

Devant le jury :

M^{me} CHELGHOUM H.	M.C.B	Université de Blida 1	Présidente
M^{me} BOKRETA S.	M.C.B	Université de Blida 1	Examinatrice
M^{me} HAMAIDI F.	Professeur	Université de Blida 1	Promotrice
Dr RABHI A.	Médecin biologiste	CHU Nafissa Hamoud (Parnet)	Co-promoteur

Année 2019-2020

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout Puissant de nous avoir fait naitre musulmanes, de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

C'est avec un grand honneur et un grand plaisir que nous remercions notre promotrice et notre chef d'option Pr Hamaidi Fella de nous avoir encadrés. Merci Madame pour votre disponibilité, vos qualités scientifiques et humaines.

Nous adressons toute notre gratitude à notre co-promoteur M^{er} RABHI Ayoub pour sa disponibilité, sa patience, ses précieux conseils et ses encouragements, et ses judicieuses orientations.

Nous remercions également les membres de jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier également les responsables de laboratoire d'analyses médicales au CHU Nafissa - Hamoud (Parnet) Alger qui nous ont fournis tous le nécessaire pour travailler dans les bonnes conditions, et ainsi qu'au personnel de laboratoire.

Finalement, nous remercions ceux qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

À ma mère Dr DEBIB Aïcha pour l'éducation qu'elle nous a donnée, ses encouragements, sa rigueur scientifique et sa patience. Je te remercie de ton soutien tout le long de mon cursus. Que Dieu te protège.

À mon père qui, bien qu'il laissait tout le temps, nous poussait à rechercher dans les livres les réponses aux questions qu'on lui posait.

À la mémoire de ma grande mère et ma tante Rabia que dieu les abris dans son paradis.

À Mes très chères frères Abderrahim, Abdessamad et Mohamed.

À ma chère tante Fatîha qui m'a toujours encouragé.

À ma binôme Lynda et sa famille.

À tous mes amis(es), mes copines et tous ce qui me connaissent de loin ou de près.

Enfin à toute la promotion de master II Microbiologie.

Soumaya



Dédicace

A l'aide de DIEU, le tout puissant; Je dédie avec grand plaisir, ce modeste travail à :

A ma chère maman

Une femme aussi adorable que toi je n'en connais pas, tu as toujours su me mettre en confiance face aux difficultés de la vie, merci à tes sacrifices et tes précieux conseils.

A mon cher papa

Qui m'a toujours soutenu et motivé dans mes études. Qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis. Je ferai de mon mieux pour rester un sujet de fierté à vos yeux, C'est à vous que je dois cette réussite et je suis fière de vous l'offrir.

A mon frère Islem

Ma plus grande source de bonheur, j'espère que la vie lui réserve le meilleur.

A mes grands parents

Ce travail est le résultat de vos prières incessantes, de votre tendresse, et de vos précieux encouragements. Que dieu vous procure santé et joie.

A ma binôme Soumia

Qui m'a soutenu et encouragé pendant tous les moments difficiles vécus. À sa maman Dr Debib pour ses orientations et sa continuelle présence.

A ma confidente « Halla »

Merci pour tout le soutien que tu m'as apportée. Je souhaite que l'amitié que nous a réuni persiste pour toujours.

A mes chères copines Chaima, Afifa, et à tous les microbiologistes promotion 2020.

A tous ceux qui m'ont aidé, je ne saurais achever ce travail sans vous dire merci.

Lynda.



Résumé

Staphylococcus aureus est un pathogène à fort potentiel épidémique fréquemment impliqué dans des infections hospitalières et communautaires difficile à traiter en raison de la prévalence élevée des souches multirésistantes aux antibiotiques.

Cette étude prospective a porté sur 600 prélèvements cliniques recueillis au niveau du laboratoire de Microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire Nafissa Hamoud (ex : Parnet, Hussein Dey, Alger).

Les résultats de l'identification ont permis de caractériser 24 souches de *Staphylococcus aureus*. L'étude du profil de résistance vis à vis des antibiotiques a montré que parmi les 24 souches identifiées, dix (10) souches sont résistantes à la méticilline.

La prévalence des souches de *S. aureus* était 12,40%. Elle varie selon le type de prélèvement. Le taux le plus élevé a été enregistré dans les pus soit (50%) , suivi par ceux des urines (33,33%), de l'hémoculture (12,5%) et du liquide céphalo rachidien (LCR) (4,17%). Un taux de 62,50% a été isolé chez les hommes contre 37,50% chez les femmes. Le service de néphrologie était le service le plus contaminé avec une prévalence de 33,33%. A noter que 41,67 % des souches ont été isolées de patients externes.

Les sensibilités antibactériennes les plus élevées ont été observées vis-à-vis du Chloramphénicol et Triméthoprime+ sulfaméthoxazole (SXT) (100%), de la Rifampicine et de la Vancomycine (95,83%), de la Ciprofloxacine (CIP) (91,67%), de l'Ofloxacine, de la Quinupristine-Dalfopristine et de Levofloxacine (87,50%) . L'analyse globale de la sensibilité vis-à-vis des antibiotiques a confirmé le caractère multirésistant des souches SARM isolées dans cette étude. Ces résistances compliquent la prise en charge correcte des patients, et rend difficile le choix du traitement de première intention.

Mots clés: *Staphylococcus aureus*, SARM, CHU Nafissa Hamoud, Antibiotiques, Antibiorésistance.

Abstract

Staphylococcus aureus is a pathogen with high epidemic potential frequently involved in hospital and community infections which is difficult to treat due to the high prevalence of multidrug-resistant strains of antibiotics.

Our prospective study focused on 600 clinical samples collected at the microbiology laboratory of the Nafissa Hamoud University Hospital Centre ex: Parnet Hussein Dey Algiers,. The objective of the study was to isolate, identify and study the antibiotic resistance profile of *S.aureus* strains.

The results of the identification revealed the characterization of 24 strains of *S. aureus* and the evaluation of their levels of antibiotic resistance led to the identification of 10 methicillin-resistant strains (MRSA). The prevalence of *S. aureus* strains was 12.40%. It varied according to the type of samples, pus (50%), urine (33.33%) blood culture (12.5%), and cerebrospinal fluid (CSF) (4.17%) , and varied according to sex, males (62.50%), females (37.50%) and according to the services with the highest percentage recorded in the nephrology department (33.33%). It should be noted that 41.67% of the strains were isolated from outpatients.

The highest antibacterial sensitivities were observed with Chloramphenicol and Trimethoprim + sulfamethoxazole (SXT) (100%), Rifampicin and Vancomycin (95.83%), Ciprofloxacin (CIP) (91.67%), Ofloxacin , Quinupristine-Dalfopristine and Levofloxacin (87.50%). The global analysis of antibiotic sensitivity confirmed the multidrug-resistant nature of the MRSA strains. These resistances complicate the correct management of patients, and make it difficult to choose the first-line treatment.

Keywords: *S. aureus*, MRSA, Antibiotic, Antibiotic resistance, UHC Nafissa Hamoud, Algiers

ملخص

المكورات العنقودية الذهبية هي بكتيريا ذات إمكانات وبائية عالية تنسب في الكثير من الأحيان في العدوى سواء في المستشفيات أو خارجها والتي يصعب علاجها بسبب الانتشار العالي للسلاسل المقاومة للمضادات الحيوية.

ركزت دراستنا الحالية على 600 عينة سريرية تم جمعها على مستوى مختبر علم الأحياء الدقيقة في المركز الجامعي لمستشفى نفيسة حمود (Parnet) سابقا التي كان هدفها عزل وتحديد ودراسة خصائص مقاومة سلاسل المكورات العنقودية الذهبية الى المضادات الحيوية.

سمحت نتائج دراسة المقاومة للمضادات الحيوية تحديد 24 سلالة من البكتيريا العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA) كما كانت نسبة معدل انتشار سلاسل (*S. aureus*) 12.40%. اختلفت باختلاف نوع العينة ، الصديد (50%) ، عينات الدم (12.5%) ، السائل التخاعي الشوكي (4.17%) والبول (33.33%) ، ويختلف حسب الجنس ، الرجال (62.50%) والنساء (37.50%) وبجانب المصالح حيث سجلت أعلى نسبة في مصالحة أمراض الكلى (33.33%). وتجدر الإشارة إلى أن 41.67% من السلاسل كانت معزولة من المرضى الخارجيين. أكد التحليل الشامل لحساسية المضادات الحيوية صفة المقاومة المتعددة لسلاسل MRSA.

لوحظت أفضل الحساسيات المضادة للبكتيريا مع Chloramphénicol و Trimethoprim+ sulfamethoxazole (100%) ، Rifampicine و Vancomycine (95.83%) ، Ciprofloxacin (CIP) (91.67%) ، Ofloxacin و Quinupristine-Dalfopristine (87.50%).

تعقد هذه المقاومات الإدارة الصحيحة للمرضى وتجعل من الصعب اختيار علاج الخط الأول. ومن هنا أهمية التدابير الصحية وكذلك الاستخدام الرشيد للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: MRSA ، *S. aureus* ، مضاد حيوي ، مقاومة مضاد حيوي ، المستشفى الجامعي نفيسة حمود ، الجزائر

Liste des abréviations

A.A.R.N.	: Algerian Antimicrobial Resistance Network.
ATCC	: American Type Culture Collection
BHI	: Brain Heart infusion
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
ECDC	: Centre européen de prévention et de contrôle des maladies
Ets	: Exfoliative toxins
G-CSF	: Granulocyte-Colony-Stimulating Factor
GISA	: Glycopeptide-Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
HLA	: Hémolysines A
IL	: Interleukine
INF- γ	: Interferon- γ
LTB4	: Leucotriène B4
MCP-1	: Monocyte Chemoattractant Protein-1
MLS	: Macrolides, Lincosamides, Streptogramines
MLST	: Multilocus sequence typing
MRSA- CO:	: SARM communautaire
MSCRAMM	: Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
PBP	: Penicillin binding proteins
PFGE	: Pulsed-field Gel Electrophoresis
PIA	: Polysaccharide Intercellular Adhesin
PLP	: Protéine Liants la Pénicilline
PLP2a :	: Protéine 2a liant la Pénicilline
PVL	: Leucocidine de Panton-Valentine
SARM	: <i>Staphylocoque aureus</i> Résistant à la Méricilline
SARM-HA	: SARM hospitalier
SASM	: <i>Staphylocoque aureus</i> sensible à la Méricilline
SCCmec	: Staphylococcal Cassette Chromosome mec
SCN	: Staphylocoque Coagulase Négative
SSSS	: Staphylococcal scalded skin syndrome
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor- α
TSS	: Toxic shock syndrome
TSST-1	: Toxic shock syndrome toxin 1
VISA	: Vancomycin Intermediate-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>

Liste des figures

Figure 1.	Frise chronologique des principaux évènements liés à l'histoire <i>Staphylococcus.aureus</i>	05
Figure 2.	Dessin d'observation de cocci regroupées en amas à partir d'un abcès, réalisé par Alexander Ogeston 1881	06
Figure 3.	Une micrographie électronique à transmission de la cellule <i>Staphylococcus aureus</i>	07
Figure 4.	Micrographie électronique à balayage colorisée de <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline	07
Figure 5.	Cultures de <i>S. aureus</i> sur milieu Chapman.....	08
Figure 6.	Cultures de <i>S. aureus</i> sur gélose au sang.....	08
Figure 7.	Schématisation des quelques facteurs de virulence de <i>S.aureus</i>	10
Figure 8.	Photos en microscopie électronique à transmission d'une souche de <i>S. aureus</i> capsulée (à gauche) et d'un mutant non capsulé (à droite)...	10
Figure 9.	Mécanismes d'action général des antibiotiques.....	17
Figure 10.	Mécanismes d'action des antibiotiques actifs sur <i>S.aureus</i>	17
Figure 11.	Frise chronologique de résistance aux antibiotiques de <i>S. aureus</i>	19
Figure 12.	Mécanismes de résistance chez <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	20
Figure 13.	Représentation des principales voies de transfert des gènes de résistance chez <i>S.aureus</i>	22
Figure 14.	Organigramme du plan expérimental.....	28
Figure 15.	Aspect macroscopique d'isolat de <i>S. aureus</i> sur gélose nutritive(1) chapman (2) et gélose au sang cuit (3).	42
Figure 16.	Observation microscopique de souche de <i>S. aureus</i>	42
Figure 17.	La mise en évidence de la fermentation du mannitol et la mobilité chez <i>S. aureus</i>	43
Figure 18.	Résultat du test catalase.....	43
Figure 19.	Résultat du test coagulase.....	44
Figure 20.	Identification de <i>S.aureus</i> par test d'agglutination.	44
Figure 21.	Résultat d'identification de <i>S. aureus</i> par la galerie API Staph.....	45
Figure 22.	Flacons du BACT/ALERT (positif/négatif)	45
Figure 23.	Répartition des résultats des prélèvements réalisés.	46
Figure 24.	Répartition des résultats des prélèvements réalisés selon l'espèce.....	47
Figure 25.	Répartition des résultats selon la nature des prélèvements.....	48
Figure 26.	Répartition des <i>staphylococcus aureus</i> isolées selon la tranche d'âge	50
Figure 27.	Résultats d'antibiogramme classique en milieu gélosé.....	51
Figure 28.	Prévalence des SARM dans la population de <i>S. aureus</i>	52
Figure 29.	Répartition des SARM selon les catégories d'âge.	55
Figure 30.	Taux de résistance et de sensibilité des souches de <i>S.aureus</i> à la famille de β - lactamine.....	58
Figure 31.	Taux de résistance et de sensibilité des souches de <i>S.aureus</i> à la famille des macrolides.	59
Figure 32.	Taux de résistance et de sensibilité des souches de <i>S.aureus</i> à la famille des Quinolones.....	61
Figure 33.	La CMI de la vancomycine sur milieu gélosé (E-test)	65

Liste des tableaux

Tableau I.	Caractères biochimiques de <i>S. aureus</i>	09
Tableau II.	Principales toxines sécrétées par <i>S. aureus</i>	13
Tableau III.	Différentes résistances aux antibiotiques et leurs mécanismes chez <i>S. aureus</i>	23
Tableau IV .	Nombre de prélèvements selon le service	29
Tableau V.	Répartition des <i>staphylococcus aureus</i> isolés selon le sexe.....	49
Tableau VI.	Répartition des souches isolées selon la provenance	51
Tableau VII.	Prévalence des SARM dans la population de <i>S. aureus</i>	54
Tableau VIII.	Répartition des SARM isolées selon le sexe.....	54
Tableau IX.	Répartition des SARM isolées selon le service.....	55
Tableau X.	Répartition des <i>S. aureus</i> selon leurs résistances et sensibilités aux antibiotiques.....	56
Tableau XI.	Les résistances de <i>S.aureus</i> aux antibiotiques selon la nature de prélèvements.....	57
Tableau XII.	Répartition des SARM selon leurs résistances et sensibilités aux antibiotiques.....	62
Tableau XIII.	Les résistances des SARM aux antibiotiques selon la nature de prélèvements.....	63
Tableau XIV.	Répartition des <i>S.aureus</i> selon les CMI.....	65
Tableau XXV.	Répartition des SARM selon les CMI.....	65

GLOSSAIRE

Anthrax : Il s'agit d'une infection bactérienne profonde et confluyente de plusieurs follicules pilo-sébacés adjacents, responsable d'un placard inflammatoire suppurant à la peau par les ostiums folliculaires. Il est parfois fébrile (**Larquey et Mahé, 2018**).

Furoncle : une nécrose totale du follicule pilo-sébacé et du derme avoisinant. Il est secondaire à une folliculite et dû à la sécrétion d'une toxine nécrosante de *S. aureus*. Il se manifeste par un nodule inflammatoire douloureux qui évolue en quelques jours vers une suppuration avec évacuation spontanée de pus correspondant au follicule nécrotique (**Larquey et Mahé, 2018**).

Escarboucle : est une infection cutanée qui implique souvent un groupe de follicules pileux, formant une bosse, qui se produit en profondeur dans la peau et peut contenir du pus. La plupart des escarboucles sont causés par la bactérie *Staphylococcus aureus*. L'infection est contagieuse et peut se propager à d'autres zones du corps ou d'autres personnes (**Dictionnaire médical, 2014**).

Impétigo : est une infection cutanée superficielle contagieuse à *Staphylococcus aureus* dans 70% des cas. Il en existe deux types : l'impétigo bulleux qui se manifeste par des bulles fragiles qui laissent place à des érosions superficielles et l'impétigo non bulleux caractérisé par des pustules et la formation des croûtes jaunâtres. L'impétigo se transmet par manuportage, il est très contagieux chez les enfants, responsable d'épidémie dans les crèches et les écoles (**Larquey et Mahé, 2018**).

Pneumonie nécrosante : est une maladie infectieuse rare, due à *Staphylococcus aureus* sécréteur de la Leucocidine de Panton Valentine (LPV +) responsable de lésions nécrotiques trachéobronchiques et pulmonaires majeures. Elle survient chez un sujet jeune sans antécédent. La maladie est associée à une mortalité importante (**Brulé et al., 2008**).

Endocardite infectieuse : est une maladie grave liée à une mortalité et une morbidité élevées. Il s'agit d'une infection de l'endocarde et des valves cardiaques ou de l'implant valvulaire prothétique. Le Staphylocoque doré est désormais la cause la plus fréquente (**Hannachi et al., 2019**).

Ostéomyélite : est une inflammation de l'os et de la moelle osseuse, le plus souvent causée par le pathogène *Staphylococcus aureus* par inoculation hématogène. Cette infection osseuse invasive se manifeste surtout chez les enfants, elle siège surtout au niveau des métaphyses où elle peut provoquer une suppuration (**Le Saux, 2018**).

Toxi-infection alimentaire : est une intoxication alimentaire causée par l'ingestion d'aliments contenant des entérotoxines staphylococciques préformés, résistantes à la chaleur et qui maintiennent leur activité dans le tube digestif après ingestion. Quelques heures après l'ingestion, les symptômes apparaissent et comprennent des nausées, des vomissements, de la diarrhée et des douleurs abdominales. La gravité de la maladie dépend de la quantité de toxine ingérée et de la santé générale de l'individu (**Sergelidis et Angelidis, 2017**).

Ilots de pathogénicité : Les ilots de pathogénicité de *S. aureus* (SaPI) sont des génomes de bactériophages ayant perdu leurs gènes codant pour la capsidite et la queue du virion (**Bobay, 2014**).

Thrombose veineuse : est un caillot de sang qui se forme dans une veine. Elle touche le plus souvent les membres inférieurs, s'installant dans une veine profonde (phlébite profonde) ou superficielle (phlébite superficielle ou paraphlébite). Malgré l'absence de symptômes très spécifiques, elle doit faire l'objet d'un traitement car elle peut aboutir à des complications parfois graves, dont l'embolie pulmonaire (**Inserm, 2019**).

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
ملخص	
Liste de figures	
Liste de tableaux	
Liste des abréviations	
Glossaire	
introduction	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	05
I. Caractères généraux de <i>Staphylococcus aureus</i>	05
I.1. Historique	05
I.2. Classification.....	06
I.3. Habitat	07
I.4. Caractères bactériologiques.....	07
I.5. Facteurs de virulence	09
I.6. Pouvoir pathogène	14
II. Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques.....	16
II.1. Définition d'un antibiotique	18
II.2. Définition de la résistance	18
II.3. Résistance de <i>S. aureus</i> aux d'antibiotiques.....	18
II.4. La résistance par famille d'antibiotique chez <i>Staphylococcus aureus</i>	22
PARTIE EXPERIMENTALE	25
I. MATERIEL ET METHODES	26
I.1. Matériel.....	27
I.2. Méthodes	28
I.2.1. Prélèvements et Techniques de Prélèvement.....	29
I.2.2. Méthodologie diagnostic.....	31
I.2.2.1. Examen macroscopiques et microscopiques.....	31
I.2.2.2. Isolement.....	32
I.2.2.3. Purification des souches.....	32

I.2.2.4. Conservation des souches.....	33
I.2.2.5. Identification biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i>	33
I.2.2.6. Etude de la sensibilité de <i>S. aureus</i> vis-à-vis des antibiotiques.....	37
I.2.2.7. Détermination de la CMI vis-à-vis de vancomycine par E-test.....	38
I.2.2.8. Analyse statistiques.....	39
II. RESULTATS ET DISCUSSION	42
II.1. Isolement	41
II.2. Identification biochimique.....	43
II.3. Analyse des données.....	46
II.3.1. Taux de positivité selon l'échantillonnage.....	46
II.3.2. Répartition des prélèvements positifs.....	47
II.3.3. Répartition selon la nature de prélèvement.....	47
II.3.4. Répartition des souches <i>S. aureus</i> selon le sexe.....	48
II.3.5. Répartition des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> selon l'âge.....	49
II.3.6. Répartitions des souches selon la provenance	50
II.3.7. Prévalence des souches SARM	51
II.3.8. Répartition des SARM selon la nature de prélèvement.....	54
II.3.9. Répartition des SARM selon le sexe.....	54
II.3.10. Répartition des souches SARM selon l'âge.....	55
II.3.11. Sensibilité des souches <i>S. aureus</i> aux antibiotiques	56
II.3.12. Sensibilité des souches <i>SARM</i> aux autres antibiotiques.....	61
II.3.13. Répartition des souches SARM selon la CMI.....	64
CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS	67
Référence bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Les antibiotiques, molécules capables d'inhiber la croissance ou d'éliminer les bactéries, représentent une des découvertes les plus importantes en médecine et ont permis de sauver des millions de vies chaque année depuis les années 40. Cependant leur utilisation massive voire abusive a engendré de nombreux problèmes parmi lesquels la sélection de bactéries résistantes qui constitue actuellement un réel problème d'antibiothérapie et de santé publique (**Inserm, 2019**).

En effet, les bactéries résistantes provoquent chez l'homme ou l'animal des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes (**OMS, 2017**).

Parmi ces germes, on distingue *Staphylococcus aureus*, qui est à la fois un germe commensal de la peau et des muqueuses et un agent pathogène majeur chez l'homme (**Madigan et al., 2007; Chemsî et al., 2014**). Selon **Gue et al., (2020)**, c'est l'un des principaux agents pathogènes des infections hospitalières et communautaires qui peut provoquer de nombreuses maladies infectieuses, telles que les infections cutanées, respiratoires, ostéo-articulaires ou septicémiques.

En 1959, la méthicilline a été découverte, Peu après l'introduction de ce nouvel antibiotique, sont apparues des souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, SARM) (**Klein et al., 2017**). En fait ces souches sont non seulement résistantes à la méthicilline mais également à tous les autres antibiotiques de la même classe. En effet, la résistance vis-à-vis de la Pénicilline a rapidement atteint les 90% des souches (**Elazhari, 2009**).

Depuis quelques années, la surveillance de l'émergence de *S. aureus* SARM et des autres bactéries multirésistantes fait partie intégrante de la politique de maîtrise de l'Algérie. Selon le 18ème Rapport d'évaluation du Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des bactéries aux antibiotiques (**AARN, 2018**), le taux des SARM était environ de 40,95 % en 2017. Ceci exprime un besoin urgent pour la recherche de nouvelles molécules antibactériennes et l'implantation d'un système de surveillance efficace pour lutter contre cette émergence alarmante.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui vise à faire un état des lieux des infections dues aux *S. aureus* au niveau du Centre Hospitalier Universitaire (CHU Nafissa - Hamoud (Ex Parnet) à Alger, où nous nous sommes fixées les objectifs suivants :

- 1- Isolement et identification des souches de *S. aureus* à partir de différents types de prélèvements.
- 2- Etude de la prévalence des souches *S. aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) .
- 3- Évaluation de la sensibilité des souches isolées *vis-à-vis* des antibiotiques.
- 4- Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI des souches isolées *vis-à-vis* de la vancomycine.

Chapitre I

Partie bibliographique

I. CARACTERES GENERAUX DE *Staphylococcus aureus*

I.1. Historique

L'histoire de *S. aureus* est riche en découvertes scientifiques. La **figure 1** retrace les principaux évènements qui ont marqué l'histoire de ce germe. L'aventure scientifique de cette bactérie commença à la fin du XIX^{ème} siècle par deux communications par Pasteur à l'académie des sciences en 1876 et 1880, où il révéla l'existence de « Vibrion phylogénique » qu'il avait isolé à la fois dans le pus de l'anthrax et l'ostéomyélite (**Newsom, 2008**).

Peu de temps après, au sein du laboratoire installé dans son jardin, le chirurgien écossais Alexander Ogston (1844–1929) fit la même découverte en analysant un abcès purulent d'un de ses patients (**Figure 2**). En 1881, il réussit à développer une méthode permettant l'isolement de ces coques capables de s'agréger en amas telle une grappe de raisins, qu'il nomma alors «*Staphylococcus* » (du grec « *staphyle* » : grappe de raisin et « *kokkos* » : grains).

En 1884 l'allemand Anton J. F. Rosenbach (1842–1923) isola des cultures pures de deux souches de staphylocoques qu'il nomma en fonction de la couleur des colonies : *Staphylococcus aureus*, du latin « *aureum* » : or, et *Staphylococcus albus*, du latin « *albus* » : blanc, dont le nom est devenu actuellement *Staphylococcus épidermoïdes* (**Newsom, 2008 ; Licitra, 2013**).

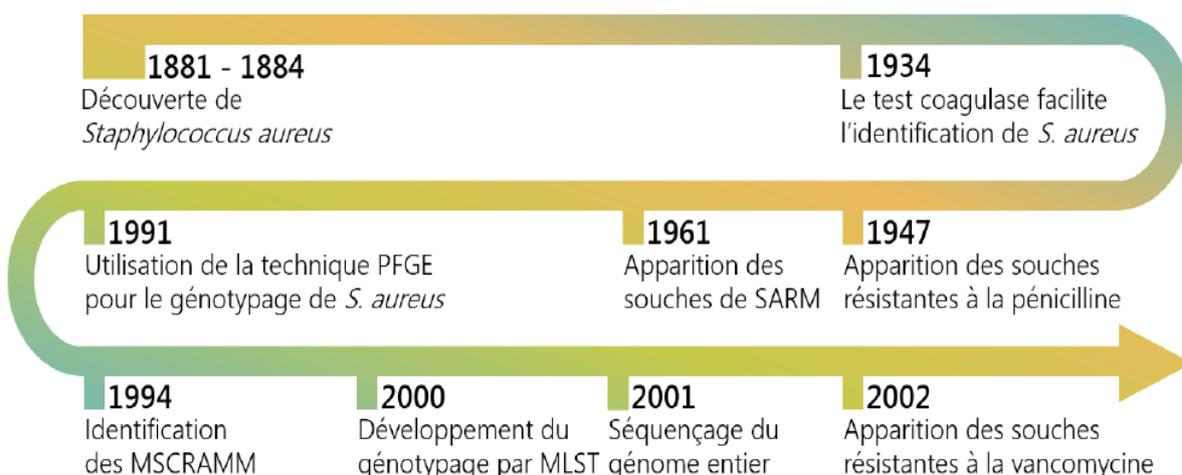


Figure 1. Frise chronologique des principaux évènements liés à l'histoire de *S. aureus* (**Morgene, 2018**).

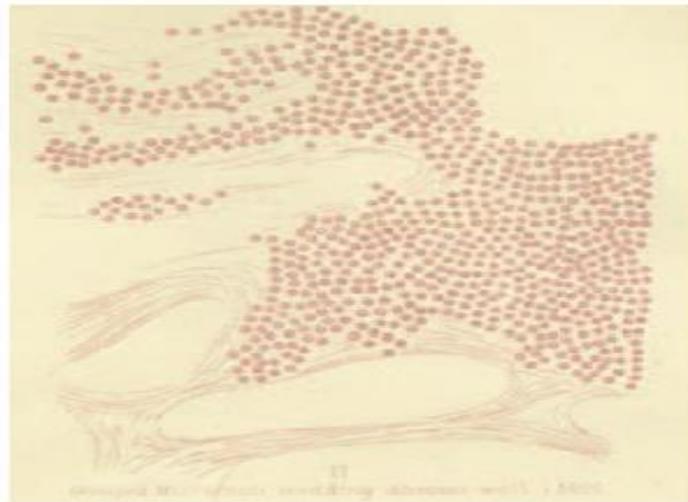


Figure 2. Dessin d'observation de cocci regroupées en amas à partir d'un abcès, réalisé par Alexander Ogeston 1881 (**Ogeston, 1881**)

I.2. Classification

Initialement, les staphylocoques furent classés au sein du genre *Micrococcus*. Cependant, avec les débuts de la biologie moléculaire, Baird-Parker sépare définitivement le genre *Staphylococcus* du genre *Micrococcus*, grâce à la différence du contenu en guanine et en cytosine de leur ADN : 66-75% pour *Micrococcus* et 30-39% pour *Staphylococcus* (**Schleifer et Bell, 2009**).

La classification du genre *Staphylococcus* ne cesse d'évoluer. Selon la 9ème édition du *Bergey's Manual of Systematics of Archeae and Bacteria* (**2015**) et NCBI (National Center for Biotechnology Information), la nouvelle classification des staphylocoques est la suivante:

- **Règne :** Bacteria ou Eubacteria.
- **Phylum :** Firmicutes.
- **Classe :** Bacilli.
- **Ordre :** Bacillales.
- **Famille :** Staphylococcaceae.
- **Genre :** *Staphylococcus*
- **Espèce :** *Staphylococcus aureus*.

I.3. Habitat

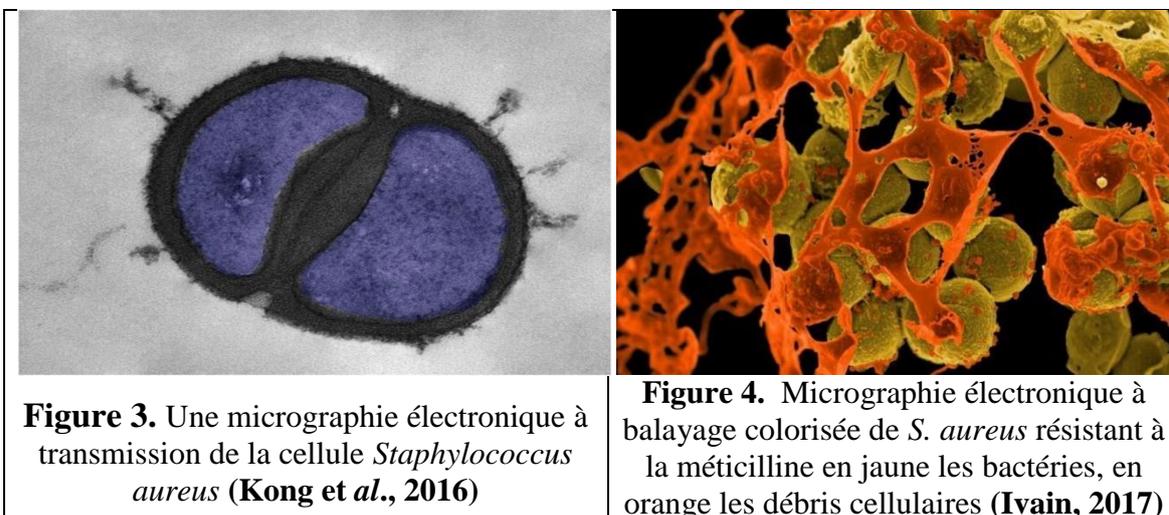
C'est un germe ubiquitaire, peu exigeant et capable de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement, présent chez les animaux mais son habitat préférentiel est l'homme (**Perez, 2013**).

Généralement ce sont des bactéries de la flore commensale cutanée et muqueuse des mammifères marins et terrestres et des oiseaux (**Eveillard, 2007**). Chez l'homme, on les trouve sur la surface de la peau qui joue un rôle dans l'équilibre physico-chimique et constitue une barrière contre l'implantation des bactéries de la flore transitoire (**Rebaihi, 2012**) et des muqueuses intestinales ou génitales (**Robert, 2013**), mais on peut l'isoler particulièrement au niveau des zones chaudes et humides de l'organisme telles que le rhinopharynx (fosses nasales et gorge), les creux axillaires, les aisselles (**El-anzi, 2014**), les glandes de la peau, le cuir chevelu, les mains, la bouche, les dents (**Kloos et al., 1976 ; Le Loir et Gautier, 2010 ; Denis et al., 2016**).

I.4. Caractères bactériologiques

I.4.1. Morphologie

Les *S. aureus* sont des *cocci* qui mesurent de 0,5 à 1,5 μ m de diamètre, immobiles, non sporulés et positifs à la coloration de Gram. Ils sont souvent en grappes ressemblant à des grappes de raisins lorsqu'ils sont observés au microscope (**Figure 4**) (**Tille, 2014 ; Arumugam et al., 2017**). Comme chez la majorité des bactéries Gram positif, l'enveloppe de *S. aureus* est composée d'une seule membrane plasmique recouverte d'une paroi épaisse riche en peptidoglycane et en acides téichoïques (**Figure 3**).



I.4.2. Culture

S. aureus se développe entre 10 et 42°C avec une température optimale de 37°C et un pH compris entre 7,4 et 7,6. Sont capables de croître dans des conditions hostiles (par exemple en bouillon hypersalé à 7% de NaCl) (Nandy, 2013 ; Accarias, 2014).

S. aureus est facilement cultivable sur les milieux usuels (gélose nutritive, Columbia Blood Agar ou bouillon BHI (Brain Heart infusion)) (Vitko et al., 2013).

Sur le milieu Chapman *S. aureus* donne des colonies jaunes dorées avec un virage du milieu vers le jaune orangé, ce qui signifie une fermentation du mannitol par la bactérie (Figure 4).

En milieu gélose au sang (Figure 5), on observe fréquemment une zone claire d'hémolyse (bêta-hémolyse) autour des colonies. Ceci est lié au fait que certains staphylocoques en particulier *S. aureus*, sont susceptibles de synthétiser quatre hémolysines distinctes et variables d'une souche à l'autre et dont l'activité diffère selon le type d'hématie en cause (Tchougoune, 2007).

Les colonies peuvent être observées après 24h d'incubation. D'un point de vue macroscopique, elles sont opaques avec un aspect circulaire de 2 à 3 millimètres et une surface convexe lisse et brillante, ainsi une pigmentation jaune-dorée justifiant le nom vernaculaire de « staphylocoque doré » (Accarias, 2014 ; Tille, 2014).

En bouillon ordinaire, la culture est rapide et les staphylocoques se multiplient en quelques heures, formant un trouble homogène ou un dépôt.

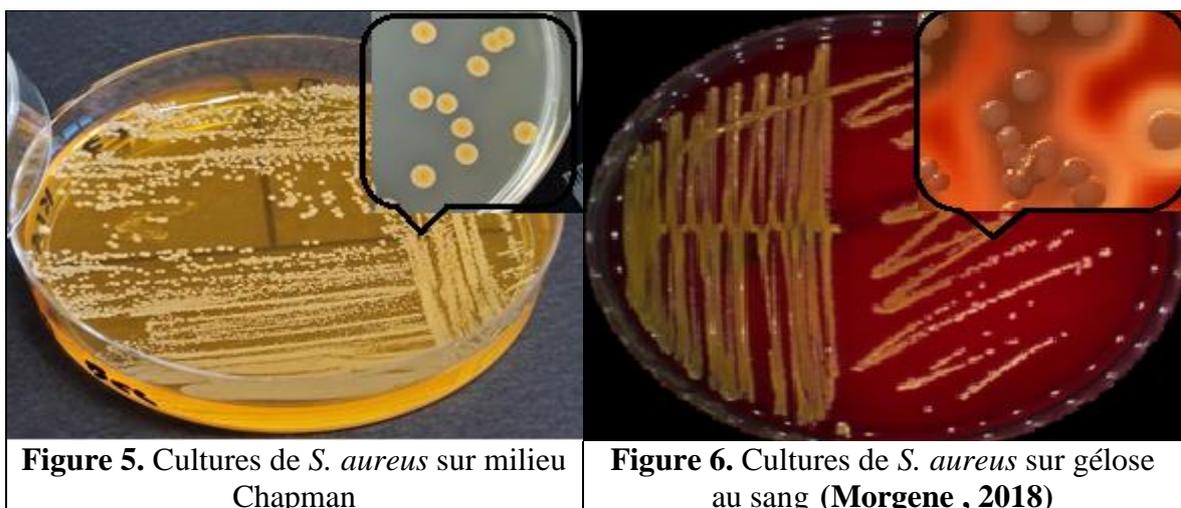


Figure 5. Cultures de *S. aureus* sur milieu Chapman

Figure 6. Cultures de *S. aureus* sur gélose au sang (Morgene, 2018)

I.4.3. Caractères biochimiques

S. aureus est un organisme aéro-anaérobie facultatif, catalase positif et oxydase négatif. Presque toutes les souches de *S. aureus* produisent une enzyme coagulase, un facteur de virulence et critère d'identification des staphylocoques dorés (Arumugam et al., 2017).

Ainsi que la production d'une DNase thermostable et un ensemble de réaction positive : lipase phosphatase alcaline... (Da Silva et al., 2018).

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant. La plupart des sucres sont fermentés ; (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol), le glucose est dégradé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol (Touaitia, 2016).

Tableau I. Caractères biochimiques de *S. aureus*.

Enzymes		Métabolisme des sucres	
Positif	Négatif	Positif	Négatif
Arginine dihydrolase	Ornithine décarboxylase	D-Mannitol	D-Cellobiose
Catalase	Oxydase	D-Mannose	D-Xylose
Coagulase	Pyrrolidonyl arylamidase	D-Tréhalose	L-Arabinose
Phosphatase	β -galactosidase	D-Turanose	Raffinose
Thermonucléase	β -Glucuronisase	Maltose	
β -Glucosidase		Saccharose	

(Loir et Gantier, 2010)

I.5. Facteurs de virulence

Pratiquement, toutes les souches de *Staphylococcus aureus* expriment de nombreux facteurs de virulence potentiels qui contribuent à la pathogénicité du germe. Ces facteurs vont favoriser la colonisation de l'hôte, la multiplication bactérienne, permettre à la bactérie d'échapper au système immunitaire de l'hôte ou provoquer directement des dommages aux tissus. On distingue des composants de la paroi, des composants de surface et des composantes élaborées (Kong et al., 2016 ; Hettak et Renai, 2017).

Parmi les facteurs de virulence (Figure 7), nous citons :

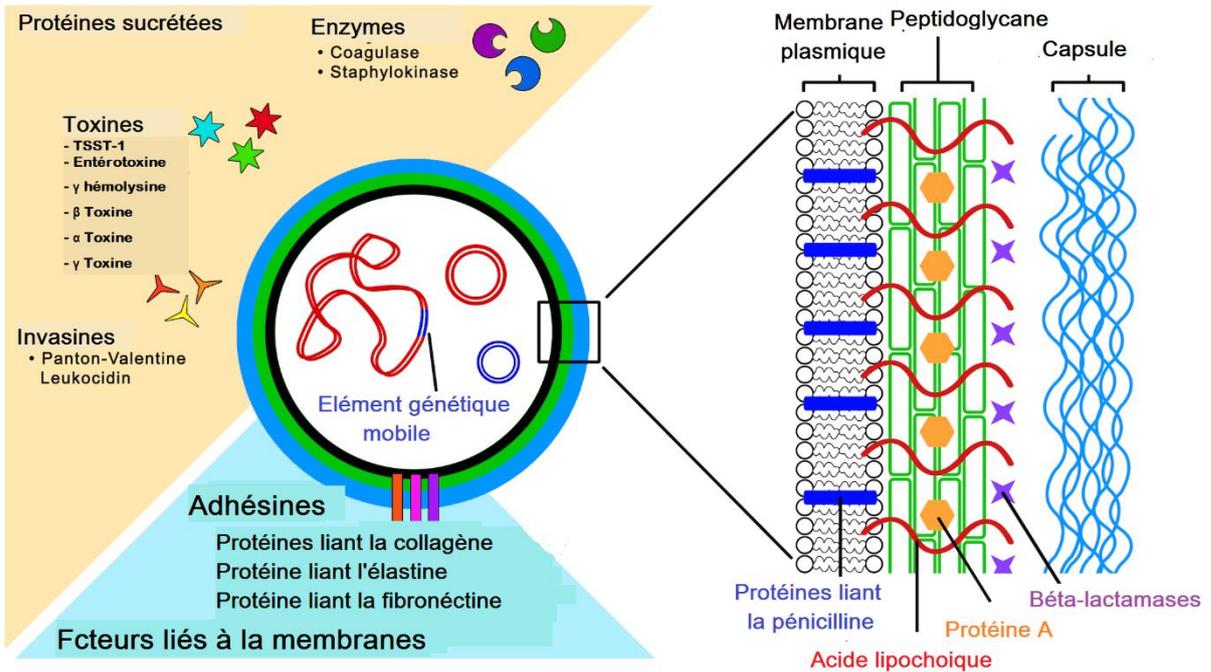


Figure 7. Schématisation des quelques facteurs de virulence de *S. aureus* (Kong et al., 2016 ; Astley, 2019).

I.5.1. Capsule

Environ 90% des souches de *S. aureus* produisent une capsule appartenant à 11 sérotypes, les 10% restants étant soit non typables soit non capsulées. Sur les isolats humains, les sérotypes les plus répandus sont le 5 et le 8 ; 25% des souches sont cap5 et 50% sont cap8 (Von Eiff et al., 2007). On retrouve dans sa composition des dérivés osidiques (galactose, mannose, fructose et leurs dérivés principalement) ainsi que des acides aminés comme la taurine. Les molécules qui assurent la liaison entre la capsule et la paroi bactérienne sont encore inconnues (Cocchiario et al., 2006).

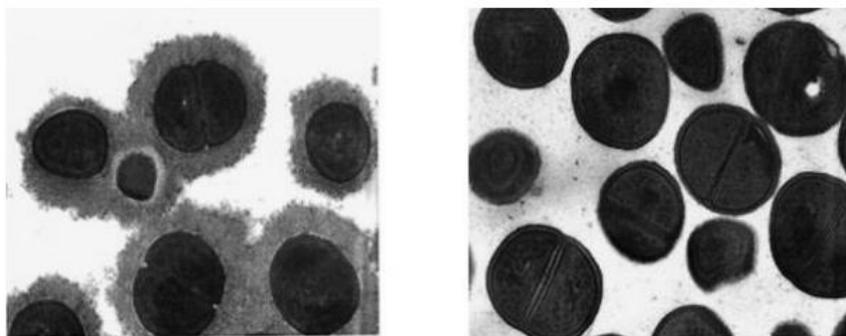


Figure 8. Photos en microscopie électronique à transmission d'une souche de *S. aureus* capsulée (à gauche) et d'un mutant non capsulé (à droite) (O'Riordan et Lee, 2004).

I.5.2. Paroi cellulaire

La paroi de *S. aureus* est composée de peptidoglycane, d'acides lipoteichoïques, et de la protéine A .

✚ Peptidoglycane

La structure particulière de peptidoglycane de *S. aureus* le rend insensible au lysozyme et favorise sa survie à l'intérieur des phagosomes, dont les chaînes sont reliées grâce à des térapeptides unis à l'acide N-acétylmuramique et à un pont pentaglycine spécifique de *S. aureus* (Tawk, 2014 ; Astley, 2019).

Il possède une activité endotoxine-like proche du lipopolysaccharide et provoque la libération des cytokines par les macrophages et l'activation du système complément. D'autre part, le peptidoglycane provoque l'agrégation des plaquettes, pouvant ainsi, déclencher une coagulation intra vasculaire disséminée (Kessler, 1991 ; Kong et al., 2016).

✚ Acides lipoteichoïques

Les acides lipoteichoïques sont impliqués dans l'adhésion bactérienne par des forces physico-chimiques grâce à leur domaine hydrophobe (Foster et Hook, 1998).

Ils provoquent une réponse inflammatoire en induisant la sécrétion de cytokines et chimiokines (TNF α , IL-1 β , IL-10, IL-12, IL-8, LTB4, C5a, MCP-1 et GCSF) par les phagocytes mononuclés. Ils participent ainsi à la formation de pus en recrutant les neutrophiles via les chimiokines (Mann et al., 2016 ; Von Aulock et al., 2003) .

✚ La protéine A

La protéine A est produite lors de la phase exponentielle de croissance. Elle est retrouvée dans la majorité des souches pathogènes pour l'homme (Koreen et al., 2004). Elle se fixe sur le fragment Fc des immunoglobulines de classe G et M ce qui perturbe l'opsonisation et donc la phagocytose de la bactérie (Falugi et al., 2013 ; Astley et al., 2019). Elle a un rôle dans le phénomène d'agrégation bactérienne (Astley et al., 2019).

I.5.3. Composants de surface

❖ Les adhésines

S. aureus peut exprimer à sa surface un panel de protéines favorisant l'attachement à certaines molécules de l'hôte telles que la fibronectine, la laminine et le collagène qui forment la matrice extracellulaire des surfaces épithéliales et endothéliales.

Ces protéines bactériennes sont nommées « Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules » ou MSCRAMM (**Clarke et Foster, 2006**).

Les protéines de liaison à la fibronectine et au fibrinogène sont retrouvées dans la majorité des souches de *S. aureus*. Elles contribuent à l'adhérence aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang tels que les cathéters (**Bronner et al., 2004**).

En plus de la coagulase " libre ", on retrouve une coagulase insoluble " liée ", à la surface des bactéries. Elle est appelée clumping factor, diffusible dans le milieu après autolyse, et réagit avec le fibrinogène ou des monomères solubles de fibrine. Cette adhésine joue un rôle dans les infections des plaies et les infections sur corps étranger. Il semble qu'elle soit fortement impliquée dans la colonisation nasale (**Bronner et al., 2004 ; González-Martín et al., 2020**).

I.5.4. Composants sécrétés

❖ Les exoenzymes et protéines

- **La fibrinolyse, ou staphylokinase**, est une protéine thermolabile et antigénique. Elle est capable de métaboliser le plasminogène en plasmine et ainsi induire la fibrinolyse (**Mölkänen et al., 2002**). En conditions physiologiques, ce mécanisme est associé à celui de la coagulation pour éviter l'apparition de thromboses. Dans le cas d'une infection à *S. aureus*, la fibrinolyse perturbe cet équilibre en favorisant la fibrinolyse et entraîne des saignements.
- **La hyaluronidase** est une enzyme extracellulaire thermolabile qui digère l'acide hyaluronique. Cette dépolymérisation de l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif de l'hôte, contribue au processus infectieux en favorisant la dissémination via la dégradation des tissus. Au sein du genre *Staphylococcus*, seule *S. aureus* possède cette enzyme (**Hart et al., 2009**).
- **Les lactamases** inactivent la pénicilline. Les PBP (penicillin binding proteins) sont situées dans la membrane cytoplasmique, leur modification confère une résistance aux pénicillines A et M et aux céphalosporines (**Loulergue et Touret, 2003**).
- **La nucléase (DNase)** du *S. aureus* est thermostable alors que celle des autres espèces de staphylocoques est thermolabile.

L'activité enzymatique est mise en évidence sur milieu à base d'ADN avec du bleu de toluidine (halo rose) (Touaitia, 2016) .

- **Les lipases** : Elles sont au nombre de 3 : les lipases, les phosphatases et les estérases. Les phosphatases sont localisées sur la membrane cytoplasmique au niveau de l'acide teichoïque. Ce sont les phosphatases alcalines et acides, ayant des pH optimaux respectifs de 10,8 et 5,2 et dont seule la phosphatase acide est partiellement libérée dans le milieu et peut donc être recherchée (Touaitia, 2016) .

❖ Les toxines

L' α -hémolysine (HLA) est une toxine cytolitique produite par plus de 90% des souches de *S. aureus* (Tavares et al., 2014). C'est un des facteurs de virulence majeur de cette bactérie et un des mieux caractérisés. C'est une protéine thermostable et antigénique, exprimée lors de la phase exponentielle de croissance. Cette α -toxine a la capacité de former des pores dans les membranes cellulaires de l'hôte (González-Martín et al., 2020). Les principales toxines produites par *S. aureus* sont résumées dans le Tableau II.

Tableau II. Principales toxines sécrétées par *S. aureus*.

Toxine	Mode d'action / Infection	Référence
α - hémolysines (HLA)	<ul style="list-style-type: none"> - Forme des pores à travers la membrane des cellules hôtes et provoque le choc septique staphylococcique. - Responsable de l'effet cytolitique. 	Kebaier et al., 2012. Pontieri, 2018.
β -hémolysine (β -toxine ou sphingomyelinase)	<ul style="list-style-type: none"> - Elle altère les membranes riches en lipides - Elle a aussi un rôle dans la colonisation de la peau par sa capacité à endommager les kératinocytes. 	Katayama et al., 2013. González-Martín et al., 2020
δ -hémolysine	<ul style="list-style-type: none"> - effet cytotoxique en agissant comme un détergent sur les membranes biologiques. - effet pro-inflammatoire en raison de sa spécificité de liaison pour les neutrophiles et les monocytes. 	Pontieri, 2018. Margarita et al., 2020

Leucocidine de Panton-Valentine (PVL)	Protéine ayant des propriétés leucotoxiques et dermonécrotiques à l'origine de pneumonie nécrosante.	Oliveira et <i>al.</i> , 2018.
Entérotoxines A, B, D	Action super antigénique pour les lymphocytes T. Intoxication alimentaires collectives.	Astley et <i>al.</i> , 2019.
TSST-1	Dotée d'une activité super antigénique et provoque le choc toxique staphylococcique.	Seiti Yamada Yoshikawa et <i>al.</i> , 2019.
Exfoliative toxins (Ets)	Responsables d'un clivage intra épidermique, provoque staphylococcal scalded skin syndrome (SSSS) de l'enfant.	Bukowski et <i>al.</i> , 2018. Iwamoto et <i>al.</i> , 2019

I.6. Pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus est un pathogène polyvalent, habitant le nasopharynx, la gorge et le tractus intestinal d'environ 30% des humains (**Gordon et Lowy, 2008**), *S. aureus* est l'espèce staphylococcique la plus importante sur le plan clinique et est responsable d'un large éventail de types de maladies graves (**Belkum et al., 2009**).

I.6.1. Infections suppuratives

S. aureus est principalement responsable d'infections suppuratives allant des infections cutanées telles que l'impétigo, les furoncles, les escarboucles et l'anthrax aux infections invasives menaçant le pronostic vital, notamment la pneumonie nécrosante, l'ostéomyélite et l'endocardite infectieuse (**Tong et al., 2015**).

I.6.2. Infections toxiques staphylococciques

- Syndrome d'exfoliation : (Staphylococcal Scaled Skin Syndrome - SSSS) : le syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée se traduit par une lésion cutanée toxique suite à la sécrétion de les exfoliatines qui favorisent la nécrolyse épidermique (**Caby, et al., 2010**).

- Le choc toxique staphylococcique *TSS* «*Toxic shock syndrome* » : le choc toxique staphylococcique est dû à la sécrétion de l'entérotoxine TSST-1 par *Staphylococcus aureus* (**Caby et al., 2010**).
- Toxi-infection alimentaire (**Le Loir & Gautier, 2010**).

II. RESISTANCE DE *S. aureus* AUX ANTIBIOTIQUES

II.1. Antibiotiques

Les antibiotiques sont des agents dont la toxicité sélective résulte d'un mode d'action spécifique. Ils agissent à faible dose pour inhiber la croissance des micro-organismes ou pour les détruire. Ils peuvent être produits de manière naturelle par des champignons et des bactéries ou obtenus par synthèse et semi-synthèse (**Mangin, 2016**).

Leur classification est multiple, elle peut se faire selon :

- *La nature chimique* car il existe souvent une structure de base sur laquelle il y a une semi-synthèse définissant ainsi une famille d'antibiotique (Ex : β -lactamines).
- *Le site d'action* spécifique à chacun :
 - ✓ Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine).
 - ✓ Inhibition de la synthèse protéique (aminosides, cyclines, phénicolés, acide fusidique, macrolides, oxazolidinones, mupirocine, synergistines).
 - ✓ Action sur la synthèse des acides nucléiques (quinolones, nitroimidazolés, rifamycines, sulfamides triméthoprim).
 - ✓ Action sur les membranes (polymyxines, daptomycine) (Figure 9).
- *Le spectre antibactérien* : il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et permet de prévoir son potentiel ainsi que ses limites.
- *Les modalités d'action* :
 - a) Un effet bactériostatique provoque une inhibition réversible de la croissance de l'organisme cible.
 - b) Un effet bactéricide entraîne la mort de celui-ci (**Mangin, 2016**)

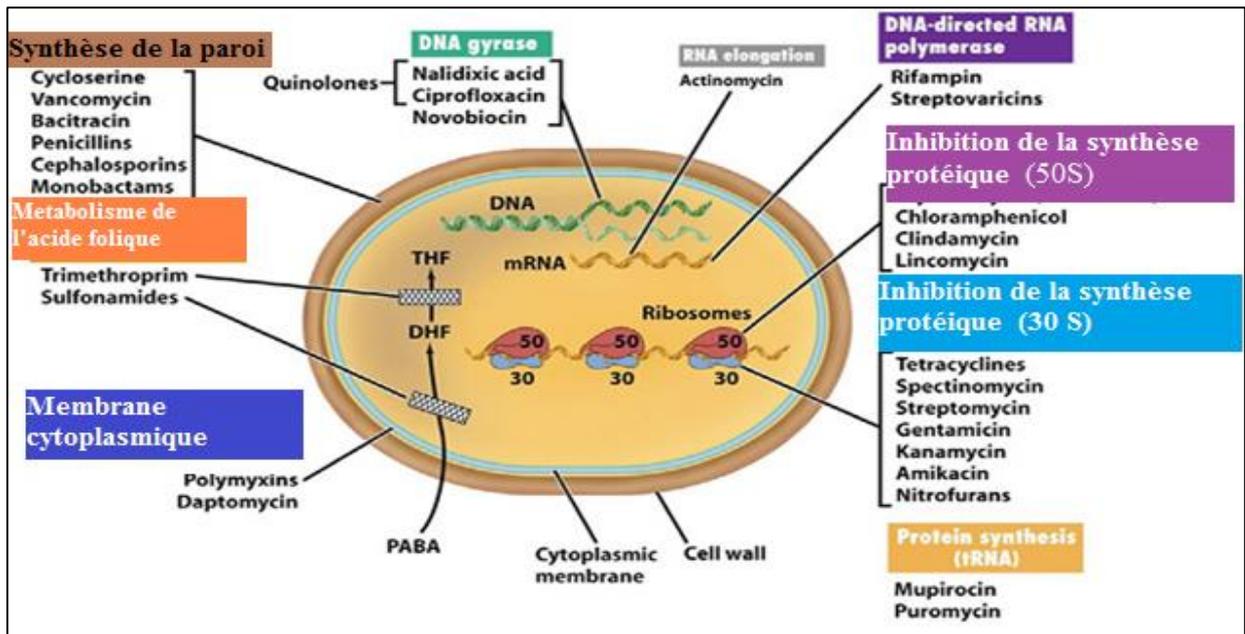


Figure 9. Mécanismes d'action général des antibiotiques (Bitrus, et al., 2018).

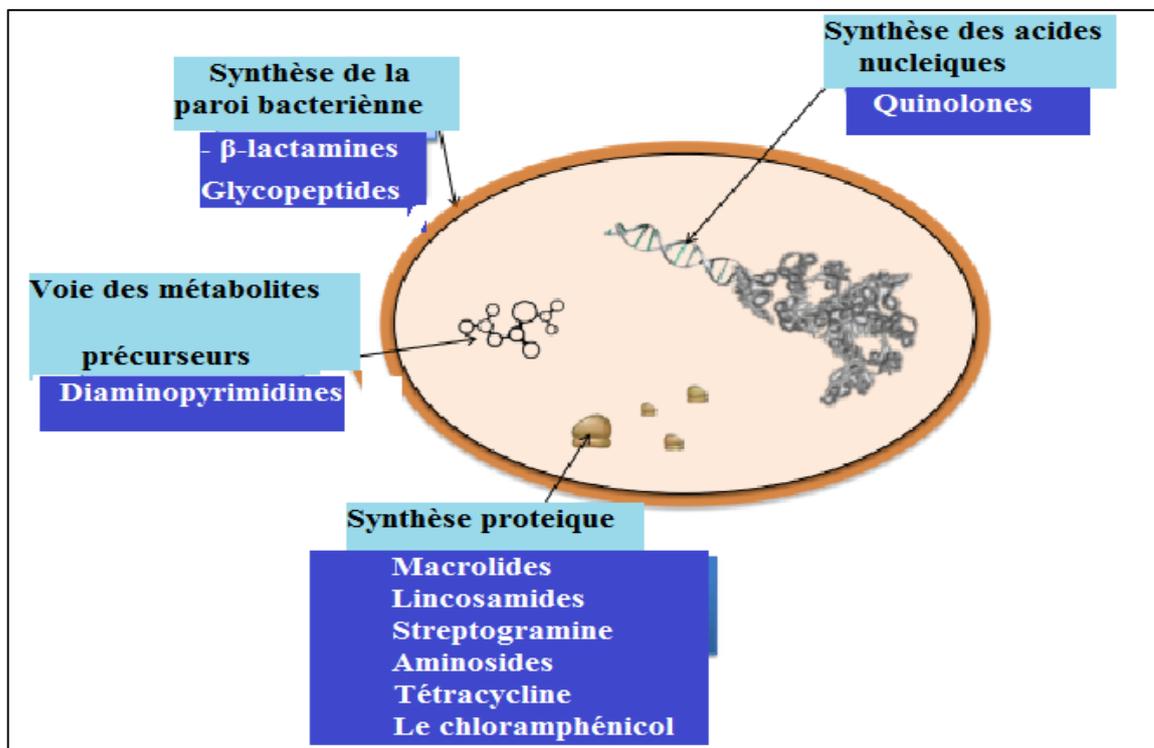


Figure 10. Mécanismes d'action des antibiotiques actifs sur *S.aureus* (Pascual, 2015).

II.2. Définition de la résistance

Les bactéries résistantes aux antibiotiques deviennent de plus en plus courantes et provoquent une crise sanitaire mondiale. La résistance est causée par un changement génétique qui permet aux bactéries de se répliquer en présence de concentrations d'antibiotiques qui étaient auparavant inhibitrices (**Blair et al., 2015**). Une CMI élevée au-dessus du seuil de sensibilité à un antibiotique, la bactérie sera considérée comme résistante. Cette résistance, qu'elle soit naturelle ou acquise, elle empêche la disparition du foyer infectieux. (**Guo et al., 2020**).

❖ Résistance naturelle

Ou la résistance intrinsèque, il s'agit d'une caractéristique présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien, le mécanisme de résistance appartient alors à son patrimoine génétique. La résistance est stable, et transmise à la descendance par voie chromosomique (**Bellini et Troilet, 2016**).

❖ Résistance acquise

Contrairement à la résistance intrinsèque, la résistance acquise est une caractéristique présente que chez certaines souches d'une espèce donnée ou du même genre. Elle résulte d'une mutation du patrimoine génétique de la bactérie (résistance chromosomique) ou, dans plus de 80 % des cas, de l'acquisition de matériel génétique externe, notamment via des plasmides provenant d'autres bactéries (résistance extra-chromosomique) (**Bellini et Troilet, 2016**).

II.3. Résistance de *S. aureus* aux d'antibiotiques

S. aureus ne possède aucune résistance naturelle aux antibiotiques. Entre 1940 et 1950, la pénicilline était l'antibiotique de choix pour traiter les infections à *S. aureus*. Cependant la sensibilité à la pénicilline a été de courte durée suite à l'apparition de souches résistantes productrices des β -lactamases (**Khoshnood et al., 2019**).

Après avoir été appliquée en clinique en 1959, la méthicilline a efficacement contrôlé l'infection de *S. aureus* résistant à la pénicilline (**Jokinen et al., 2017**).

Cependant, seulement deux ans après son application, en 1961, des chercheurs scientifiques britanniques ont signalé l'isolement d'une souche de SARM; cette résistance a été produite par un gène codant pour la protéine de liaison à la pénicilline 2a ou 2' (PBP2a ou PBP2') (*mecA*) qui a été intégrée à l'élément chromosomique (SCC*mec*) de *S. aureus* sensible à la *méthicilline* (Schulte et Munson, 2019) .

De plus, le SARM est rapidement devenu l'agent pathogène résistant le plus fréquemment identifié dans de nombreuses régions du monde, notamment en Europe, aux États-Unis, en Afrique du Nord, au Moyen-Orient et en Asie de l'Est (Lakhundi et Zhang, 2018).

Les premiers rapports sur la résistance aux glycopeptides associée à un échec thérapeutique ont été publiés en 1995 pour la teicoplanine et en 1997 pour la vancomycine. Les SARM de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) sont définis par des concentrations minimales inhibitrices (CMI) élevées pour la vancomycine et la teicoplanine.

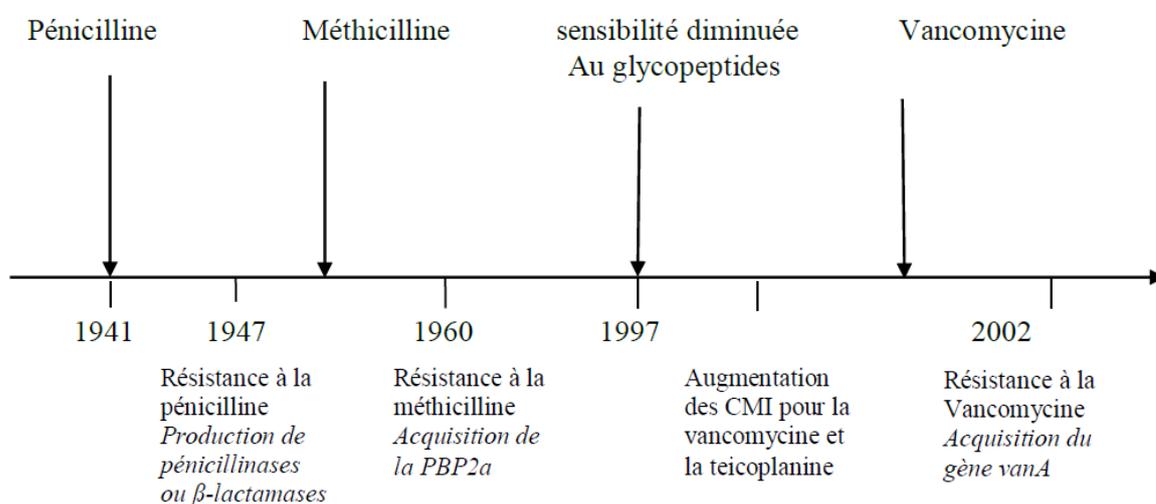


Figure 11. Frise chronologique de résistance aux antibiotiques de *S. aureus* (Lowy, 2003).

II.3.1. Résistance intrinsèque

Le mécanisme de résistance intrinsèque comprend principalement quatre types (Figure 12) :

- ✚ Diminution de la perméabilité de la membrane cytoplasmique
- ✚ Pompes d'efflux
- ✚ Inactivation enzymatique
- ✚ Modification ou remplacement de la cible

✚ Diminution de la perméabilité de la membrane cytoplasmique

Lorsque la perméabilité de la membrane cellulaire est abaissée, le métabolisme énergétique des bactéries est affecté et, par conséquent, l'absorption du médicament est réduite, conduisant à une résistance aux médicaments (Anuj *et al.*, 2019).

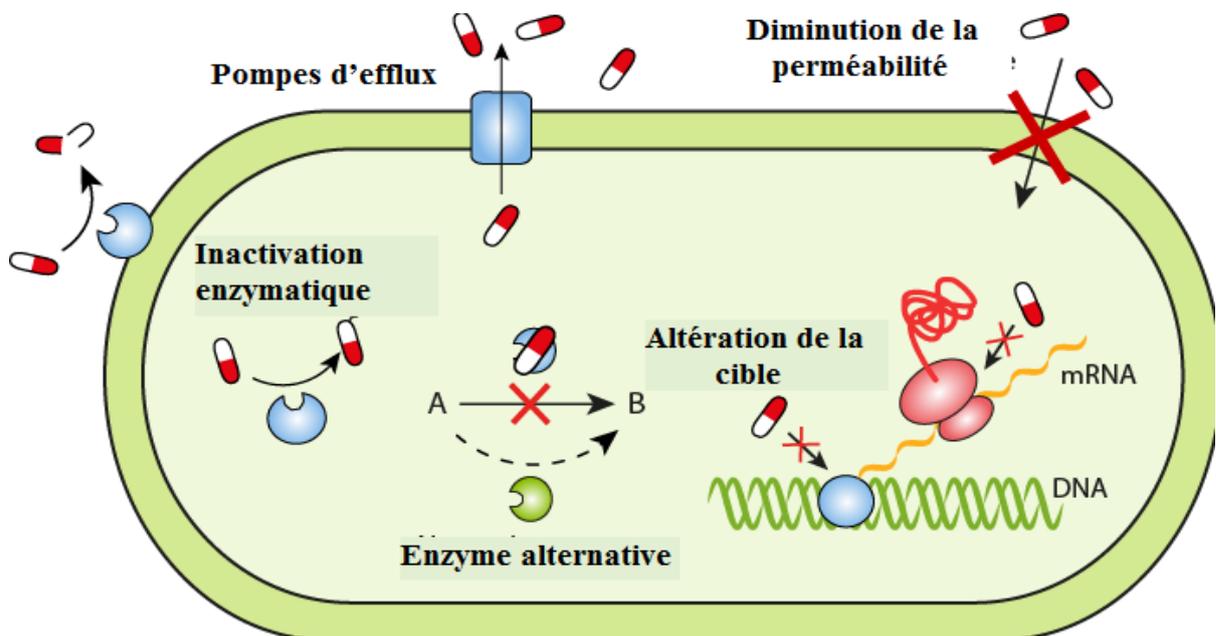


Figure 12. Mécanismes de résistance chez *Staphylococcus aureus* MRSA (Guo *et al.*, 2020).

Pompes d'efflux

Ce système a été découvert en 1980 par Ball et McMurry lors de l'étude de la résistance d' *Escherichia coli* à la tétracycline (**Seifi et Khoshbakht, 2016**). Par la suite, les chercheurs ont mené de nombreuses expériences sur le système d'efflux actif, ou ils ont confirmé que le système d'efflux actif est une structure physiologique normale des bactéries et existe dans les souches sensibles (**Lekshmi et al., 2018**). Lorsqu'ils sont induits par des substrats dans l'environnement pendant une longue période, les gènes codant pour le système d'efflux sont activés et exprimés, et la capacité d'efflux de médicaments est considérablement améliorée, conduisant ainsi à une résistance aux antibiotiques (**Zarate et al., 2019**).

Inactivation enzymatique

Ce mécanisme est basé sur la modification du noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêchant la fixation de l'antimicrobien sur sa cible et provoque une perte d'activité grâce à sa capacité de détruire des liens chimiques nécessaires à l'intégrité fonctionnelle du médicament. (**Muylaert et Mainil, 2012**).

Modification ou remplacement de la cible

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, De telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. La modification de la cible, mécanisme de résistance décrit pour presque tous les antibiotiques, est particulièrement importante pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides et aux molécules du groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines) chez les bactéries Gram positives (**Guo et al., 2020**).

II.3.2. Résistance acquise

Résistance par mutations

Staphylococcus aureus peut devenir résistant aux médicaments par des mutations génétiques qui altèrent l'ADN gyrase cible ou réduisent les protéines de la membrane externe, réduisant ainsi l'accumulation de médicaments (**Yang et al., 2019**). Par exemple, le principe de résistance à la clindamycine et à l'érythromycine est provoqué par une modification de l'ARN méthylase ribosomale (**Martinez et al., 2018**).

✚ Acquisition d'un gène de résistance

Le mécanisme de la résistance au *Staphylococcus aureus* est principalement dû aux plasmides et aux bactériophages. La conjugaison et la transduction (Figure 13) sont les deux mécanismes fréquemment rencontrés chez *S. aureus* SARM qui peuvent transférer leurs gènes de résistance à d'autres bactéries (Vestergaard et al., 2019). Par exemple, le SARM peut obtenir des plasmides résistants aux médicaments à partir d' *Enterococcus* , élargissant et améliorant encore sa résistance (Lazaris et al., 2017).

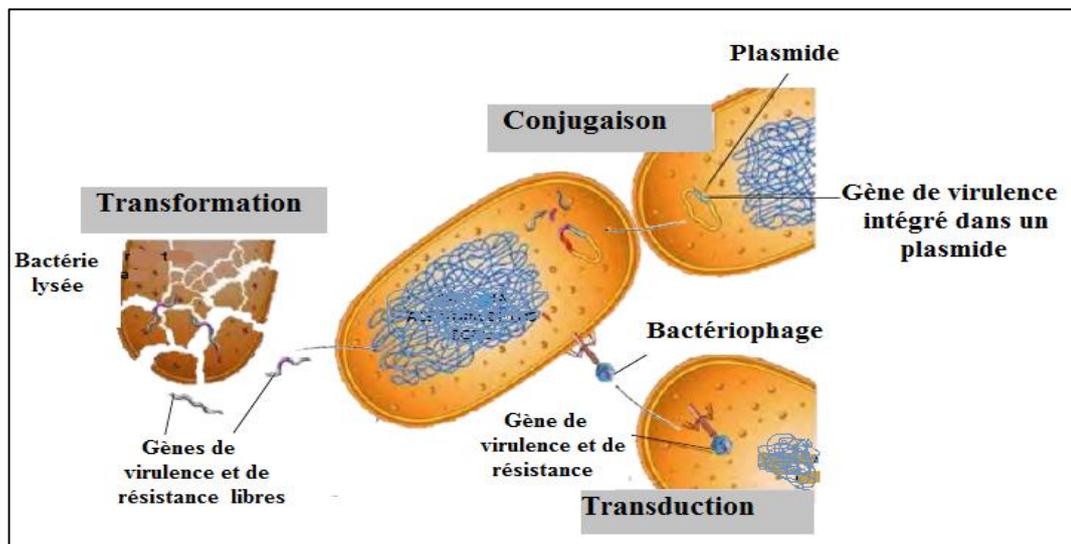


Figure 13. Représentation des principales voies de transfert des gènes de résistance chez *S.aureus* (Pascual, 2015).

II.4. La résistance par famille d'antibiotique chez *Staphylococcus aureus*

- **Résistance aux bêta-lactamines**

Deux mécanismes principaux de résistance sont décrits chez *S. aureus* :

- ❖ *La production de pénicillinase* : plus de 90% des souches de *S. aureus* sont résistantes à la Pénicilline G par production de pénicillinase, une enzyme hydrolysant toutes les pénicillines sauf les pénicillines M (oxacilline et cloxacilline) (Tasse, 2017).
- ❖ *La modification des PLP* : la résistance par la modification ou altération de la cible PLP qui touche généralement les souches SARM. Les SARM possèdent le gène

mecA ou *mecC*, qui code une PLP additionnelle, appelée PLP2a ou PLP2c, qui ne possède aucune affinité pour les bêta-lactamines, sauf pour la ceftaroline. Ce gène s'est très rapidement répandu chez les souches du genre *Staphylococcus* (Reynolds, Brown, 1985 ; Vestergaard, et al., 2019).

Le tableau III résume les mécanismes de résistance aux autres familles d'antibiotiques.

Tableau III. Différentes résistances aux antibiotiques et leurs mécanismes chez *S. aureus*

Famille d'antibiotiques	Mécanisme	Références
Les aminosides	La résistance acquise des <i>Staphylococcus aureus</i> aux aminosides est due à l'acquisition des éléments génétiques mobiles qui codent pour la production d'enzymes modificateur : acétyl-transférases, les phospho-transférases et les adényl-transférases.	Foster, 2017.
Les Quinolones	Acquisition progressive de mutations chromosomiques spontanées dans la cible de l'antibiotique ou par l'induction d'une pompe d'efflux multidrogue.	Gheorghe et al., 2018.
Les tétracyclines	La résistance aux tétracyclines est due soit à un mécanisme d'efflux par une protéine membranaire codée par les gènes <i>tetK</i> ou <i>tetL</i> d'origine plasmidique soit une protection de la cible ribosomale par une protéine codée par le gène transposable <i>tetM</i>	Ghernaout-benchouk, 2013
Les macrolides, lincosamides, streptogramines, kétolides (MLSK)	La méthylation de l'ARN 23S au niveau d'une seule adénine à la position 2058 empêche la fixation des macrolides, lincosamides et streptogramine B. Une mutation ponctuelle au niveau des adénines 2058 ou 2059 dans le gène de l'ARN ribosomal 23S peut induire une résistance. La présence d'un plasmide portant le gène d'efflux <i>msr(A)</i> codant pour une pompe ATP-dépendante .	Lakhundi, et Zhang, 2018. Ghanbari et al., 2016.

Le chloramphénicol	Il existe deux types résistance à cet antibiotique. La première est liée à une modification enzymatique par production d'une chloramphénicol-acétyl-transférase codée sur un plasmide. La deuxième est due aux systèmes d'efflux	Ogawara, 2019
Acide fusidique	la résistance est le résultat de l'acquisition horizontale de gènes (<i>fusB</i> ou <i>fus</i>) codant pour des protéines qui bloquent la liaison de l'acide fusidique à EF-G ou à des mutations chromosomiques spontanées affectant EF-G qui résulte une diminution de la perméabilité	Edslev et <i>al.</i> , 2018
La rifampicine	La résistance à cette classe d'antibiotique est causée par des mutations dans une région hautement conservée du gène <i>rpoB</i> qui code pour la sous-unité β de l'ARN polymérase.	Wang et <i>al.</i> , 2019
Fosfomycine	Acquisition d'un gène FosB localisé dans un plasmide qui code pour une thiol- <i>S</i> -transférase inactivant la fosfomycine ou à des mutations au niveau de transporteurs de transport de fosfomycine GlpT et UhpT	Truong-Bolduc et <i>al.</i> , 2018

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL ET METHODES

Dans le but d'isoler et d'identifier *S. aureus* résistant à la méticilline, six-cents (600) prélèvements ont été analysés avec une moyenne de trente (30 ± 2) prélèvements par jour, issus de pus, de l'hémoculture, de LCR et d'urines provenant de sujets hospitalisés dans différents services (Néphrologie, Ophtalmologie, Médecine interne et Pédiatrie) du CHU de Nafissa Hamoud et de sujets non hospitalisés venus en consultation externe.

Chaque prélèvement reçu au laboratoire est accompagné d'une fiche technique qui comporte :

- Nom et prénom.
- Age et sexe
- Service d'hospitalisation
- Nature de prélèvement
- Antibiothérapie en cours

Notre étude s'est étalée sur une période d'un mois (allant du 16 Février au 16 Mars 2020). L'analyse microbiologique des différents échantillons prélevés a été réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie du Centre hospitalier universitaire Nafissa Hamoud.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel biologique

- Souches de références : *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la méticilline.
S. aureus ATCC 43300 résistant à la méticilline.
- Plasma humain TP 100 %.
- Anticorps monoclonaux Pastorex Staph-plus (Biomérieux France).

Les souches de référence fournis par l'Institut Pasteur d'Algérie sont utilisées pour valider les différents tests effectués.

I.1.2. Matériel non biologique

Il est représenté par les instruments et l'appareillage, verrerie, milieux de culture, les réactifs et les colorants ainsi que les différents disques d'antibiotique. (**Voir Annexe A**).

I.2. Méthodes

La figure 14, illustre le protocole suivi lors de notre expérimentation :

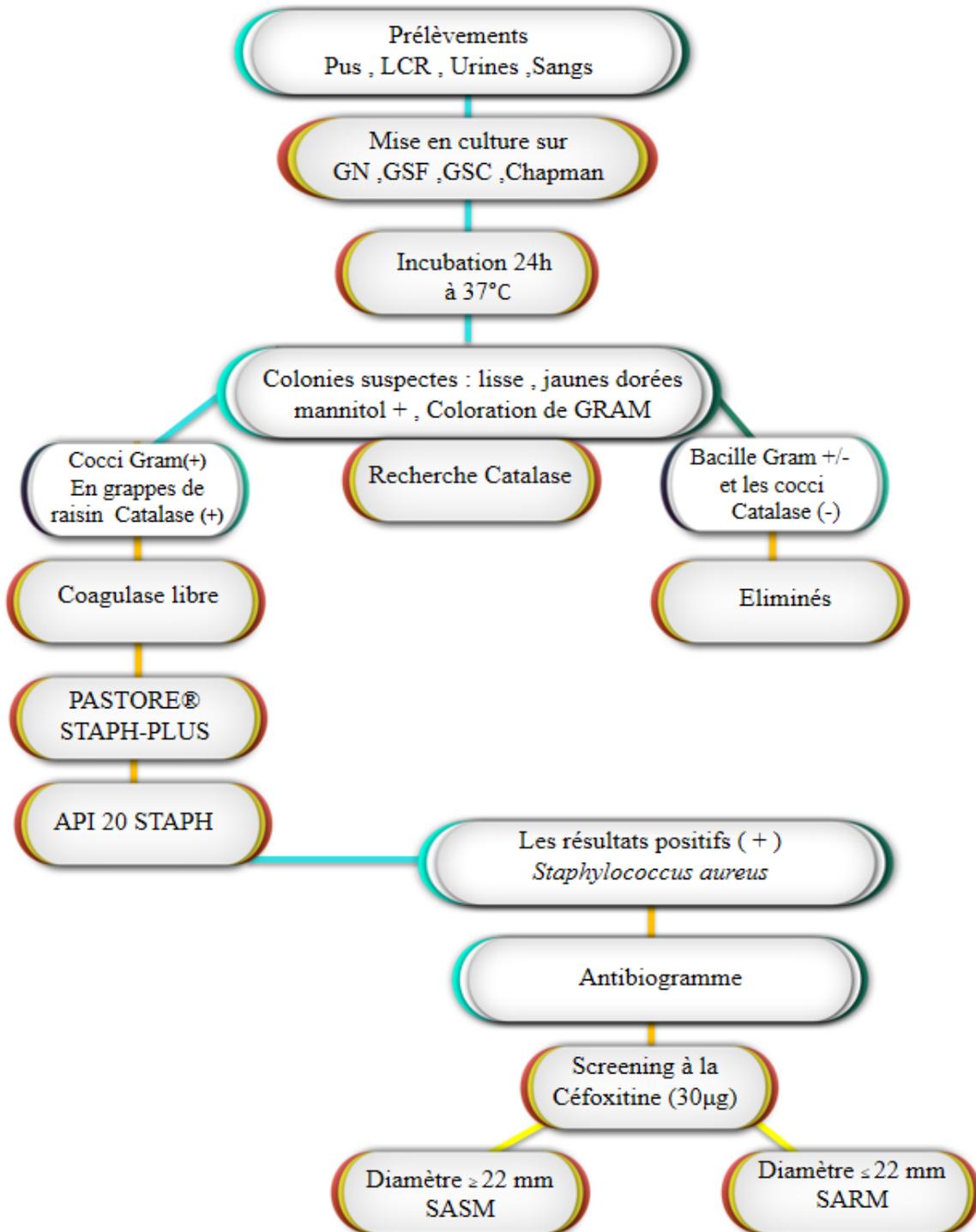


Figure 14 : Organigramme du plan expérimental.

I.2.1. Prélèvements et Techniques de Prélèvements

600 échantillons ont été prélevés à partir de différents échantillons pathologiques, pus, hémoculture, LCR et urines.

Tableau IV : Nombre de prélèvements selon le service

Service	Nature de prélèvements	Nombre	Total
Pédiatrie	Pus	9	134
	Hémoculture	27	
	LCR	32	
	Urines	39	
	Coproculture	26	
	Broncho pulmonaire	1	
Gynécologie	Urines	99	143
	Hémoculture	8	
	Prélèvements vaginales	29	
	Coproculture	7	
Néphrologie	Urines	66	131
	Hémoculture	58	
	Pus	7	
Ophtalmologue	Pus	25	33
	Prélèvements naso-pharyngé	8	
Cardiologie	Hémoculture	69	89
	Pus	20	
Pour les externes	Pus	7	70
	Urines	53	
	Coproculture	10	

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.

Urine

La méthode habituelle recommandée consiste à récupérer de manière aseptique l'urine du milieu de jet, après un lavage hygiénique des mains et une toilette des organes génitaux externes au savon doux puis rinçage à l'eau ou par un antiseptique non agressif. Après évacuation du premier jet (20 ml) contaminé par la flore commensale, au moins 20 à 30 ml sont recueillis dans un pot stérile

Afin d'éviter toute prolifération bactérienne, le transport au laboratoire se fera le plus vite possible (pas plus de 2 heures). Au-delà de ce délai, le flacon d'urine sera placé dans un récipient contenant de la glace, les urines pourront être gardées 24 heures à 4°C.

LCR

Le liquide céphalo rachidien est prélevé au niveau lombaire, entre les espaces vertébraux L4-L5 ou L5 et S1, à l'aide d'une aiguille à ponction lombaire (PL) et recueilli dans des tubes stériles. La quantité moyenne collectée, pour la majorité des examens à réaliser est de 3 ml.

Pus

Après une désinfection soigneuse de la peau pour éviter toute contamination, le prélèvement de pus est effectué par écouvillonnage pour les infections superficielles et par ponction à l'aide d'une seringue pour les infections profondes.

Hémoculture

Dans le laboratoire du CHU Nefissa Hamoud, le prélèvement est réalisé selon le protocole d'automate BACT/ALERT® 3D. Le principe général de cet automate la détection de la croissance microbienne qui repose sur la mesure indirecte du dioxyde de carbone (CO₂) dégagé par les bactéries par réflectométrie. Une alarme visuelle et sonore avertit de tout résultat positif.

Les principales étapes de cette technique sont illustrées dans l'**annexe B**.

I.2.2. Méthodologie de diagnostic

I.2.2.1. Examen macroscopiques et microscopiques

➤ Etude cyto bactériologique des urines

- **Examen macroscopique**

Il est effectué dès la réception des urines après homogénéisation par retournement du flacon. Il permet d'apprécier la limpidité, l'aspect, la couleur, et la présence ou l'absence de dépôt cristallin et d'une éventuelle hématurie. Son intérêt reste limité. En effet, le caractère trouble d'une urine ne signe pas systématiquement la présence d'une infection et peut simplement refléter la présence de cristaux.

- **Examen microscopique**

Il comprend un examen cytologique et un examen bactériologique, qui ont pour but d'apprécier de façon quantitative et qualitative la présence d'éléments figurés (leucocytes, hématies, cellules épithéliales et cristaux) et de bactéries dans les urines.

➤ Etude cyto bactériologique de LCR

- **Examen macroscopique**

L'aspect macroscopique du LCR est noté dès sa réception. Le LCR normal est clair, classiquement en «eau de roche», mais diverses étiologies entraînent des modifications de cet aspect normal si bien qu'il peut apparaître : hémorragique (sanguant), xanthochromique (jaunâtre), trouble (hypercytose).

- **Examens microscopiques**

Cytologie du LCR : elle consiste à la numération des éléments présents dans le LCR, et est effectuée en remplissant par capillarité une cellule de Nageotte de LCR total. L'examen est effectué par microscopie optique (objectif x40). Le résultat est rendu en éléments/mm³ en précisant la nature des éléments prédominants (polynucléaires ou lymphocytes)

➤ Hémoculture

Les flacons d'hémoculture sont enregistrés et placés dans l'automate BACT/ALERT® 3D qui fonctionne grâce à une technologie colorimétrique développée par BioMerieux .

➤ **Etude cytobactériologique du pus**

• **Examen macroscopique**

L'examen macroscopique peut fournir des renseignements intéressants comme la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus. Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé au sang ou non, fluide ou séreux.

Avec *S. aureus*, le pus est caractérisé par sa couleur jaunâtre et un aspect de la surface lisse et à consistance crémeuse et des fois mélangé au sang.

• **Examen microscopique**

L'examen microscopique est aussi nécessaire pour confirmer si l'infection est monobactérienne ou hétérobactérienne et de déterminer la morphologie et la position intra ou extracellulaire. Il consiste à apprécier le degré de d'altération et le nombre des polynucléaires neutrophiles et éventuellement la présence d'autres cellules.

I.2.2.2. Isolement

➤ **Isolement direct**

A l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur stérile, on prélève une portion (pus) ou une quantité liquide (urines, LCR et sang), du prélèvement que nous ensemençons par épuisement sur gélose (gélose nutritive, gélose Chapman, gélose au sang) en boîte de Pétri, de façon à obtenir des colonies bien isolées après une incubation à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Isolement après enrichissement**

A partir du tube contenant le bouillon nutritif (infusion cœur cerveau), un échantillon du prélèvement est ensemencé sur le milieu d'isolement. L'incubation est faite à 37°C pendant 18 à 24 heures.

I.2.2.3. Purification des souches

La purification se fait en poursuivant le repiquage sur le même type de milieu jusqu'à l'obtention d'un isolat pure présentant les mêmes caractéristiques que celui obtenu en premier isolement. La dernière culture pure doit être faite sur gélose nutritive pour faire l'objet d'autres tests (tests préliminaires, identification biochimique, antibiogramme...).

I.2.2.4. Conservation des souches

La conservation de courte durée des isolats purifiés a été réalisée par ensemencement sur gélose nutritive inclinée par l'anse de platine. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les tubes ont été conservés au réfrigérateur à 4°C.

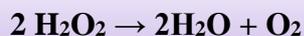
La conservation de longue durée des souches a été réalisée par piqure central dans la gélose de conservation en tube. Après incubation pendant 24 heures à 37°C. Les tubes ont été stockés à la température ambiante.

I.2.2.5. Identification biochimique de *Staphylococcus aureus*

Suite aux études macroscopiques et microscopiques, toutes les souches vont être identifiées par aspect des colonies et des tests biochimiques (production de la catalase, de la coagulase et la fermentation de mannitol).

➤ Test de la catalase

La catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ avec dégagement d'O₂) sous forme gazeuse selon la réaction suivante:



- **Technique**

A partir d'un milieu solide, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

- **Lecture**

La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d'O₂.

➤ Test Mannitol-mobilité

Le mannitol est un produit de réduction de D-Mannose, sa dégradation conduit à la formation de fructose, dont l'attaque aboutit à des acides à chaînes courtes qui acidifient le milieu entraînant le virage au jaune de l'indicateur de pH.

- **Technique**

Le milieu utilisé est le mannitol-mobilité, semi solide au rouge de phénol. L'ensemencement se fait par piqure centrale jusqu'au fond du tube. L'incubation se fait à 37C pendant 24h à 48h.

- **Lecture**

- Lecture de la dégradation du mannitol :

- ✓ Réaction positive : virage du milieu du rouge au jaune ; le mannitol est fermenté.
- ✓ Réaction négative : le milieu reste inchangé.

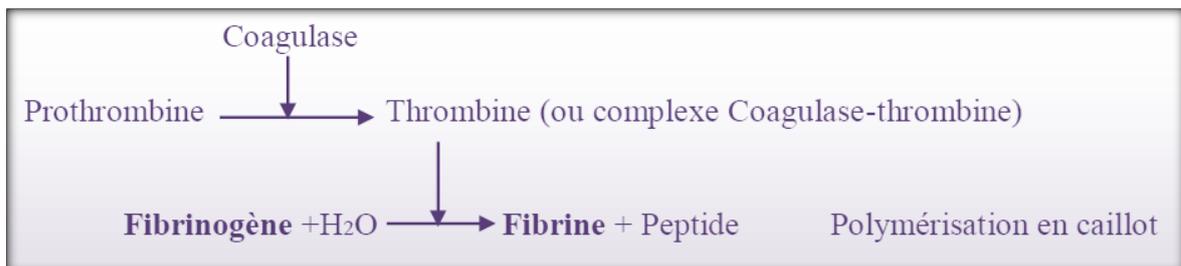
- Lecture de la mobilité :

- ✓ Mobile : trouble de toute la masse.
- ✓ Immobile : culture le long de la piqure seulement.

➤ **Recherche de la coagulase libre**

La coagulase libre ou staphylocoagulase est une enzyme capable de coaguler le plasma oxalaté ou citraté. Sa recherche est considérée comme un critère d'identification major de *S. aureus*

On met en contact du plasma humain, incapable de se coaguler seul, avec un peu de bouillon cœur cervelle où a été cultivé le germe à étudier. Si le fibrinogène, soluble dans le plasma, se transforme en fibrine solide, alors un caillot se formera au fond du tube.



- **Techniques**

- Dans un tube à hémolyse, on mélange 0,5 ml de plasma humain et 0,5 ml d'une culture de 18 heures en bouillon nutritif.
- Dans un deuxième tube, la même procédure est réalisée avec la souche de référence *S. aureus* ATCC 25923 pour un contrôle positif.
- Un troisième tube contenant le plasma uniquement servira de contrôle négatif.

- Les 3 tubes ont été placés dans l'étuve à 37 °C et incubés pendant 24 heures.
- **Lecture**
 - Si le plasma coagule (présence d'un caillot) → *S. aureus*.
 - Si le plasma n'est pas coagulé → espèce autre que *S. aureus*.
 - Pour les tubes témoin : le tube contenant la souche de référence doit être positif, et l'autre est négatif, si non le test est à refaire.

➤ **Test d'agglutination par PASTOREX® STAPH-PLUS**

Le test Pastorex™ Staph-Plus permet la recherche simultanée des trois composants spécifiques de *Staphylococcus aureus* suivants :

- 1) le facteur d'affinité pour le fibrinogène, également appelé coagulase liée ou « clumping factor » ;
- 2) la protéine A qui possède une affinité pour le fragment cristallisable (Fc) de l'immunoglobuline gamma (IgG)
- 3) les polysaccharides capsulaires du *S. aureus*.

Ce réactif est constitué de particules de latex sensibilisées d'une part avec du fibrinogène et des IgG, et d'autre part avec des anticorps monoclonaux spécifiques des polysaccharides capsulaires de *S. aureus*.

• **Technique**

Laisser les réactifs à température ambiante (18-25 °C) avant utilisation.

- Sur une carte jetable choisir deux cercles adjacents et les identifier.
- Dans l'un des cercles, déposer 1 goutte de R1 (latex anti- *S.aureus*) dans le deuxième, 1 goutte de R2 (latex contrôle négatif) , en tenant les flacons compte-gouttes verticalement lors de la distribution des gouttes.
- En utilisant des bâtonnets jetables différents (ou des oeses), ajouter les colonies suspectes dans chacun des deux cercles : soit 1 à 2 colonies de taille moyenne issue d'un milieu non sélectif (ex : gélose Columbia au sang), soit 3 à 6 colonies de petite taille issues d'un milieu sélectif (ex : milieu de Chapman).

- Mélanger soigneusement pendant 10 secondes à l'aide de bâtonnets jetables (ou des oeses) , bien étaler sur toute la surface des cercles.
- Donner à la carte un léger mouvement de rotation pendant 20 secondes et lire la réaction sous éclairage normal sans utiliser de loupe.

- **Lecture**

- *Un résultat positif* est indiqué par l'apparition avec le réactif R1 d'une agglutination dans les 30 secondes (temps du mélange + temps de rotation de la carte) et par l'absence d'agglutination avec le réactif R2.
- *Un résultat négatif* est indiqué par l'absence d'agglutination avec les réactifs R1 et R2.
- La réaction est ininterprétable si le réactif R2 présente une agglutination.

➤ **La Galerie API Staph**

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée en API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification.

- **Technique**

- Préparation de la galerie : Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation API Staph et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.
- Préparation de l'inoculum : Réaliser une pré-culture sur gélose Columbia au sang. Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule API Staph Medium, d'opacité égale à 0,5 Mcfarland .
- Inoculation de la galerie : Introduire la suspension dans les tubes de la galerie en évitant la formation de bulles.
- Pour les caractères ADH, URE, remplir les cupules d'huile de paraffine.

- Incuber 24 heures à 37°C

- **Lecture**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture **annexe. C**.

I.2.2.6. Etude de la sensibilité de *S. aureus* vis-à-vis des antibiotiques

Pour l'antibiogramme standard, nous avons testé la liste des antibiotiques recommandée pour l'étude de *S. aureus*. Ces tableaux (Voir **annexes D et E**) fournis par le fascicule de standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire) selon les recommandations de l'OMS, 8^{ème} édition 2017 (**AARN, 2018**).

L'antibiogramme se fait sur gélose Mueller-Hinton, coulée en boîte de pétri sur une épaisseur de 4mm.

➤ **Inoculum**

- A partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologie stérile à 0.9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 MF ou une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625nm
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

➤ **Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

➤ **Application des disques d'antibiotiques**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologique stériles pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé.

➤ **Incubation**

- Incuber les boîtes de Pétri pendant 18 heures à 37°C.

➤ **Lecture**

- Mesurer avec précision, les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans les tables de lectures fournis par l'OMS. (**Annexe F**).

I.2.2.7. Détermination de la CMI vis-à-vis de vancomycine par E-test

Le principe de la CMI par E-test est basé sur la combinaison des deux concepts, dilution et diffusion.

Le système E-test consiste en une bande en plastique, non poreuse, calibrée par un gradient préétabli de concentration d'antibiotiques, couvrant 15 dilutions pour déterminer la CMI en µg/ml d'une souche testée en milieu gélosé.

Le gradient couvre une rangée de concentrations allant de 0,016 à 256 µg/ml, ou 0,002 à 32 µg/ml selon l'antibiotique.

➤ **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum a été préparé en réalisant une suspension de colonies obtenues d'une culture pure de 24 heures, dans de l'eau physiologique, la suspension a été calibrée à l'échelle 0.5 Mac Farland.

L'ensemencement a été effectué par écouvillonnage sur la gélose.

➤ **Application des bandes :** Déposé la bande de E-test sur la gélose sèche à l'aide de l'applicateur en mettant l'échelle de la CMI face à l'ouverture de la boîte; Assuré après un bon contact entre la bande et la gélose en appuyant sur la bande en partant de la base.

➤ **Lecture**

Après 24 heures d'incubation, ce qui rend la croissance bactérienne visible. Une ellipse d'inhibition symétrique, axée sur le support, se forme.

Les bords de l'ellipse d'inhibition indiquent la valeur de CMI, exprimée en $\mu\text{g/ml}$.

I.2.2.8. Analyse statistiques

Pour cette étude, nous avons que des variables qualitatives nous utilisé le test Chi 2 (χ^2).Le principe est en annexe **J**.

Résultats et discussion

II. RESULTATS ET DISCUSSION

Durant une période d'étude d'un mois du 16 février au 15 mars 2020, 600 prélèvements ont été collectés provenant de patients hospitalisés et externes de différents services de CHU Nefissa Hamoud « Parnet » à Alger. Ce chapitre présente les principaux résultats obtenus.

II.1. Isolement

Après 24h d'incubation à 37°C, les isolats bactériens ont montré divers aspects culturels, en fonction du milieu de culture utilisé, permettant de suspecter leur appartenance au genre *Staphylococcus*.

➤ Examen macroscopique

- **Milieu de Chapman :** Après 24h d'incubation, les colonies de *Staphylococcus sp.* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté (caractéristique principale de *S. aureus*). Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre. Elles sont moins volumineuses en comparaison avec leur aspect sur gélose au sang cuit.
- **Gélose au sang frais et gélose au sang cuit :** Les colonies de *S. aureus* sont circulaires, d'un diamètre variant entre 1 à 3 mm, volumineuses, opaques éventuellement pigmentées et de couleur jaune doré et légèrement bombées ou aplaties ; elles présentent une surface luisante et humide.

Il faut noter que si la culture est négative sur ces deux milieux solides, un repiquage est réalisé sur ces mêmes milieux dans le cas d'apparition d'un trouble sur le milieu d'enrichissement du prélèvement, après 24 heures d'incubation à 37°C.

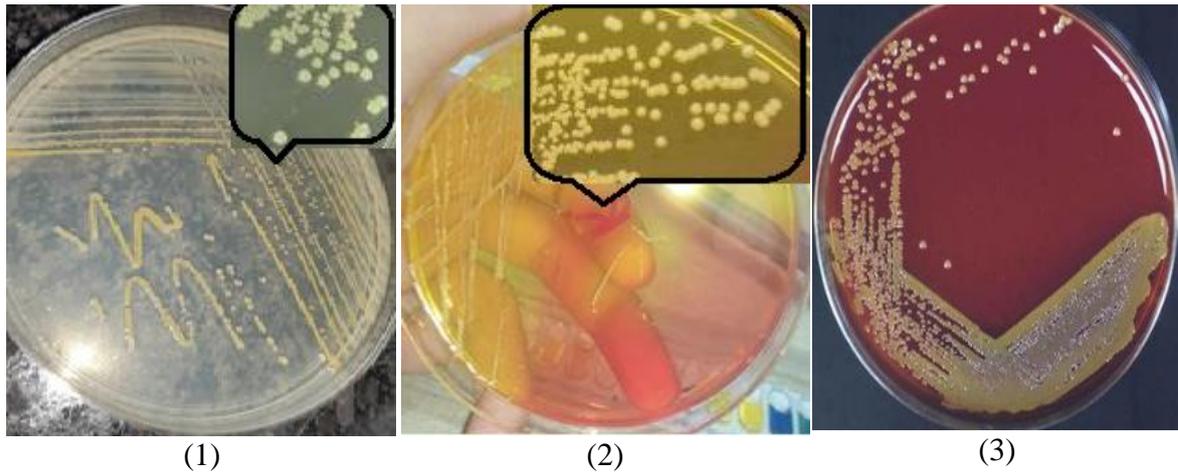


Figure 15 : Aspect macroscopique d'isolat de *S. aureus* sur (1) gélose nutritive (2) Chapman et (3) gélose au sang cuit.

➤ **Examen microscopique**

Après la réalisation de la coloration de Gram, on observe sous microscope optique des cocci à Gram positif, diplocoque ou en grappes de raisin de couleur violet (Figure 18A).

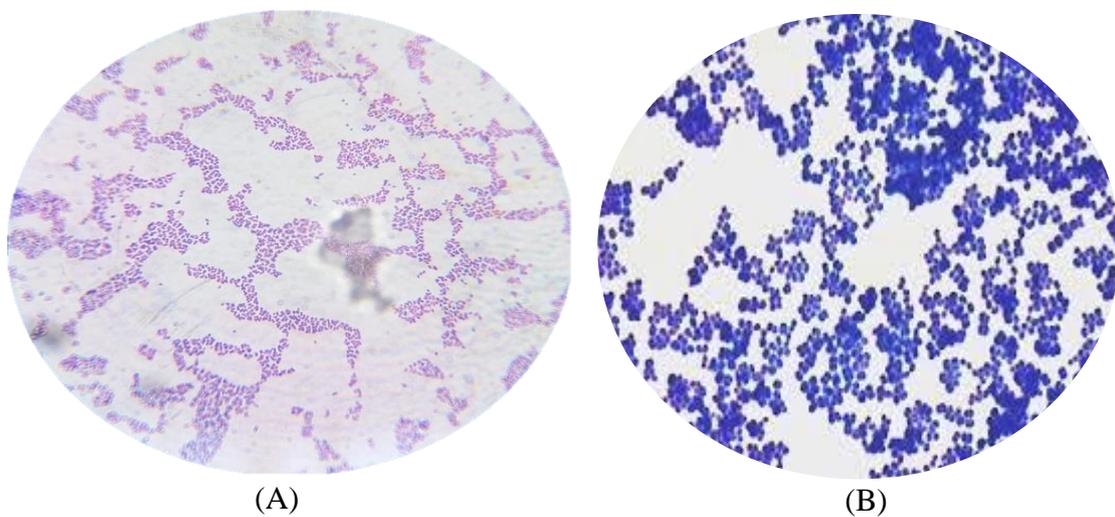


Figure 16 : Observation microscopique de souche de *S. aureus* (A) après coloration de Gram (B) Coloration au Bleu de méthylène sous microscope optique G x 100.

II.2. Identification biochimique

- **Test de mannitol mobilité**

Toutes les souches *S. aureus* sont immobiles et fermentent le mannitol (mannitol+)

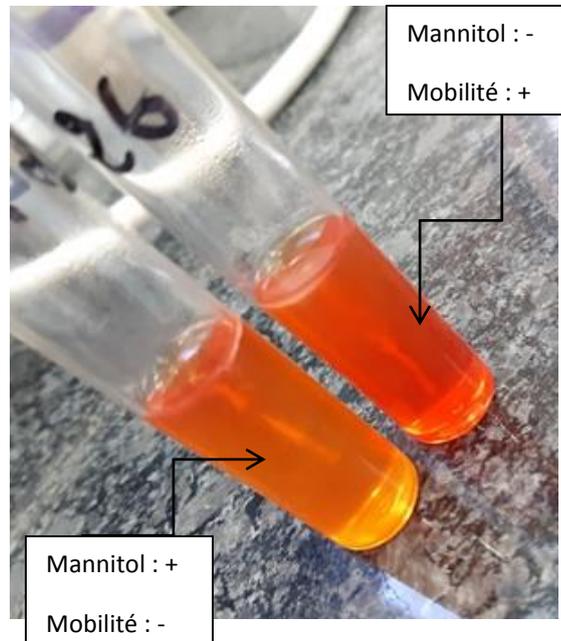


Figure 17 : La mise en évidence de la fermentation du mannitol et la mobilité chez *S. aureus*.

- **Test de catalase**

Toutes les souches de *Staphylococcus aureus* possèdent une catalase positive qui se traduit par le dégagement des bulles d'air.

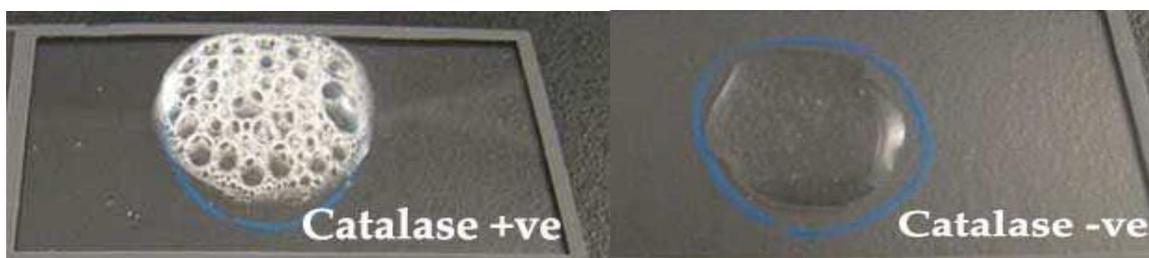


Figure 18 : Résultat du test catalase

- **Test de coagulase**

La mise en évidence de la coagulase libre permet de le différencier *S. aureus* des autres espèces du genre *Staphylococcus* (Figure 19).



Figure 19 : Résultat du test coagulase

- **Test d'agglutination Pastorex Staph plus**

Le test d'orientation rapide (Pastorex Staph plus) réalisé, a permis de confirmer les résultats des tests d'identification précédents où toutes nos souches prédéfinies *S. aureus* ont donné une agglutination en moins de 40 secondes (test positif \Rightarrow Identification de *Staphylococcus aureus*) (Figure 20).

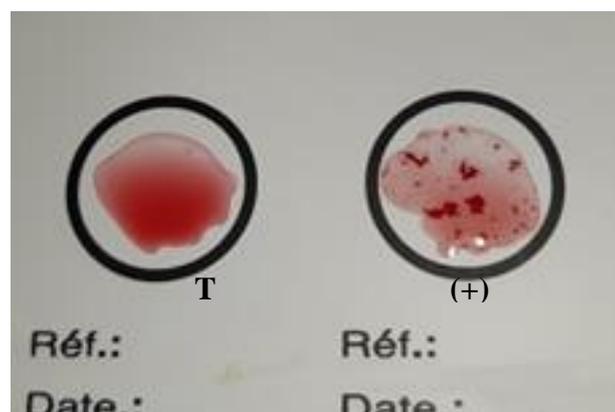


Figure 20 : Identification de *S.aureus* par test d'agglutination Pastorex Staph plus.

- **Galerie API Staph**

La lecture et l'identification de ses réactions se fait à l'aide du catalogue analytique (Figure 21).



Figure 21 : Résultat de l'identification de *S. aureus* par la galerie API Staph

- **BACT/ALERT 3D**

La détection microbienne automatisée sur BACT/ALERT méthode ultra précise et compétitive permet d'avoir un résultat fiable et précis. Une alarme visuelle et/ou sonore avertit de tout résultat positif (Figure 22).



Figure 22 : Flacons du BACT/ALERT (positif/négatif)

II.3. Analyse des données

II.3.1. Taux de positivité selon l'échantillonnage

Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur les différents milieux utilisés, montrent un développement bactérien.

Au cours de notre période d'étude, 600 prélèvements ont été effectués, 250 se sont révélés positifs, soit un taux de 41,67%, 350 prélèvements se sont montrés négatifs, soit 58,33% (Figure 23)

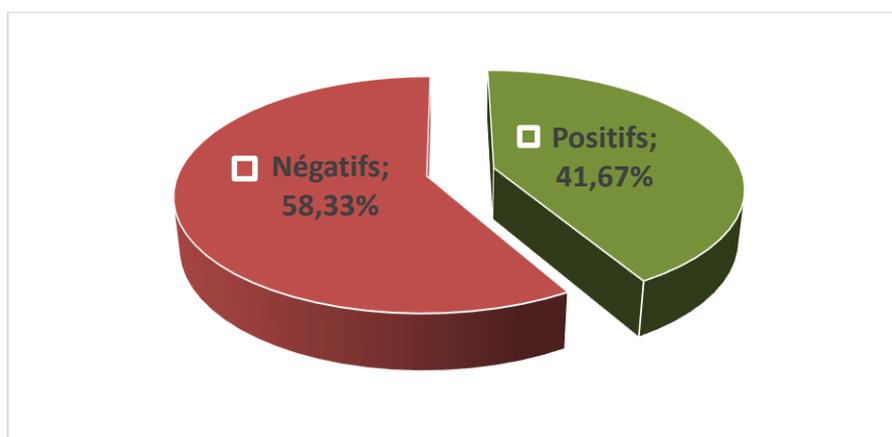


Figure 23 : Répartition des résultats des prélèvements réalisés.

Ce taux obtenu est presque similaire à celui retrouvé par **Bousnane et Aissuo (2018)** (38,3%). Par contre il est beaucoup moins élevé par rapport à l'étude faite par **Chergui et Bilal (2019)** à l'hôpital de Boufarik de Blida qui ont enregistré une fréquence de 62,8. En 2011, Kais a enregistré une fréquence intermédiaire de 31,4% dans le même établissement.

Il faut noter que quelques échantillons ont été contaminés. Cette contamination peut avoir 02 origines ; soit au niveau du patient donc au cours du prélèvement lui-même, soit au laboratoire au cours du diagnostic. Dans les deux situations, la principale cause est le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation de bactéries de l'environnement.

II.3.2. Répartition des prélèvements positifs

Parmi les 250 prélèvements positifs, 55 souches appartenant au genre *Staphylococcus* dont 24 souches sont des *S. aureus* soit 9,6% et 31 souches sont des *Staphylococcus* à coagulase négative avec un taux de 12,40%. Le reste des souches appartient à d'autres espèces et est représenté par un taux de 78% (Figure 24).

Ceci est en parfait accord avec l'étude de **Teggar (2013)** au CHU d'Alger qui a enregistré une fréquence d'isolement de *S.aureus* de 10%. Par contre les résultats obtenus dans cette étude sont nettement supérieurs aux résultats trouvés par **Chergui et Belal (2019)** (29,94%) et l'étude de **Saouide El Ayne et al., (2014)** à l'hôpital El Idrissi au Maroc qui ont montré un taux de 25%.

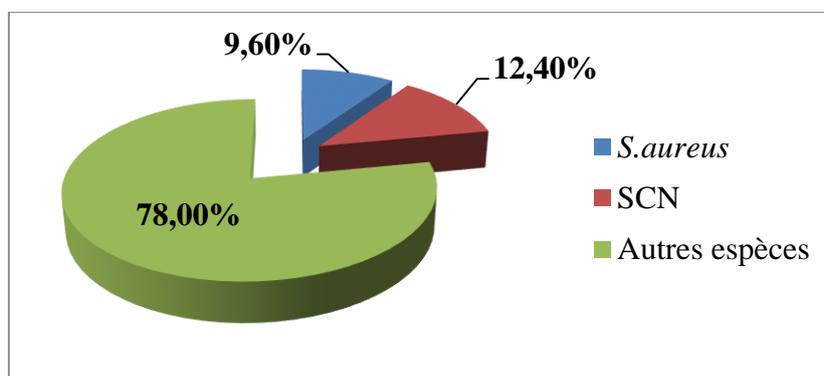


Figure 24 : Répartition des résultats des prélèvements réalisés selon l'espèce.

Selon une étude récente au Maroc **Benouda et ELHamzoui (2020)**, sur 1433 microorganismes isolés de différents prélèvements et services de l'Hôpital Militaire Mohamed V. Les *S. aureus* représentaient 96 souches soit 6,7%. Elle a été variable selon les services concernés.

II.3.3. Répartition selon la nature de prélèvement

Durant notre étude, plusieurs types de prélèvements ont été analysés, on remarque une prédominance des souches isolées et identifiées à partir des prélèvements de pus où le nombre de souches était 12 (50%) suivi par les prélèvements urinaires avec un nombre de 8 isolats (33,33%), puis l'hémoculture avec un nombre de 3 souches correspondant à un taux de 12,5% et en dernier une souche était présente dans le LCR avec un taux de 4,17% (Figure 25).

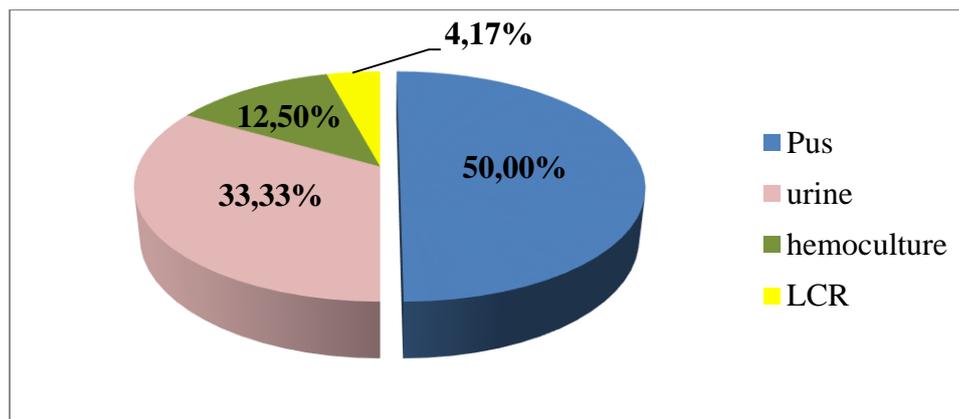


Figure 25 : Répartition des résultats selon la nature des prélèvements.

Selon **Benouda et ELHamzoui (2020)**, la répartition de la fréquence d'isolement des *S. aureus* est variable en fonction de la nature de prélèvement. Selon la même étude *S.aureus* représente 19% des germes isolés des pus et 10,7% de ceux des hémocultures.

Une étude réalisée sur les hémocultures à l'hôpital de Boufarik de Blida, a révélé que le *S. aureus* ne constituait que 8% un chiffre beaucoup moins élevé par rapport à nos résultats sur l'hémoculture (12,50%) (**Azizi et Askeur, 2019**).

Les résultats obtenus à partir du pus sont proches de ceux retrouvés par **Aouati (2009)** et ceux rapportés par **Elhamzaoui (2009)** qui ont trouvé des taux de 61.47% et 67 % respectivement.

En effet, les atteintes cutanées sont expliquées par les facteurs de virulence notamment les adhésines que possède le *S aureus* et par la proximité du réservoir le plus souvent cutané.

II.3.4. Répartition des souches *S. aureus* selon le sexe

D'après les résultats de cette étude, nous constatons une prédominance des souches isolées chez les patients du sexe masculin avec 15 souches soit 62.5% contre 9 souches soit 37,5% chez le sexe féminin (Tableau V) avec un sex ratio de 1,6.

Tableau V : Répartition des *staphylococcus aureus* isolés selon le sexe

Sexe	Effectifs	Pourcentage
Masculin	15	62,50%
Féminin	9	37,50%
Total	24	100,00%

Selon les résultats obtenus dans des études faites en Algérie par **Harrat et Sahraoui (2017)** et **Aboussad et al., (1996)** au Maroc, **Cimiotti et al., (2006)** à New York, et **Anderson-Berry et al., (2008)** en Caroline du nord n'ont observé statistiquement aucune différence dans le sexe. Les deux sexes ont le même risque d'acquérir une infection à *S.aureus*. En revanche, nos résultats corroborent avec ceux de **Morgan et al., (1999)**, **Markus et al., (2010)**, **Kiptoo, (2012)** et **Ghali et Mostefai (2019)** qui ont suggéré que le sexe est un facteur de risque dans les infections à *S. aureus* est que les hommes sont plus touchés par rapport aux femmes. Les taux trouvés par **Ghali et Mostefai (2019)** (64, 29 % des hommes et 35, 71 femmes) sont presque les même trouvés dans notre étude (62,50% des hommes et 37,50% pour les femmes).

Une étude en Europe mettant en évidence des inégalités entre hommes et femmes au niveau du système immunitaire, explique le rôle des œstrogènes et des androgènes dans les différences entre les deux sexes surtout lorsqu'il s'agit de résultats du sepsis (**Angele et al., 2014**).

II.3.5. Répartition des souches de *Staphylococcus aureus* selon l'âge

Sur un total de 24 souches, la majorité des souches isolées sont issues de patients âgés de 45 à 60ans et de 18 à 45ans avec un taux de 33,33% et 29,17% respectivement, suivi par les personnes âgées plus de 60ans avec un taux de 20,83% et arrive en dernier la catégorie d'âge de la naissance à 18 ans avec un taux 16,67%.

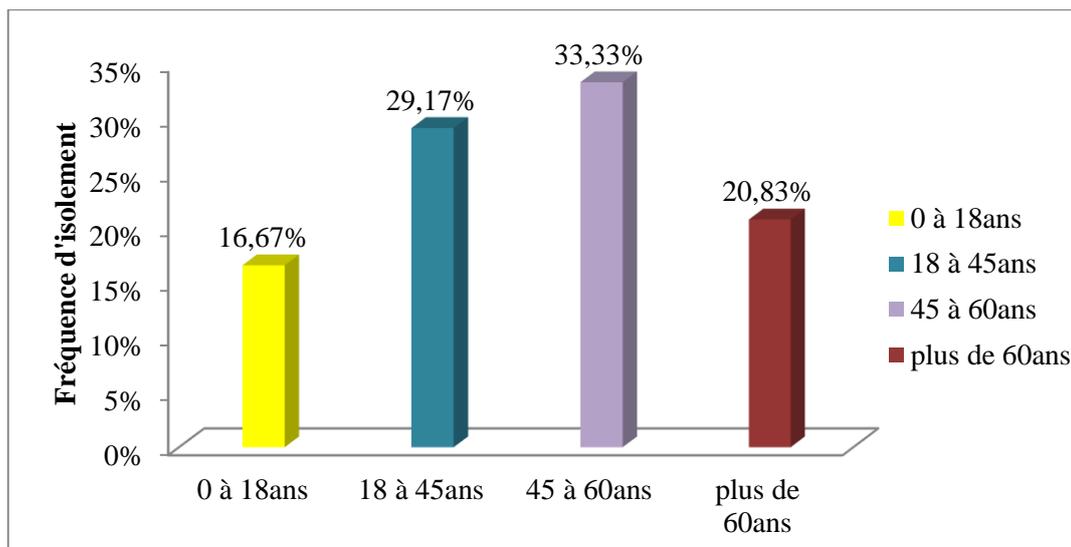


Figure 26 : Répartition des *staphylococcus aureus* isolés selon la tranche d'âge.

Selon la littérature scientifique, l'âge représente un facteur de risque d'infection au *S.aureus* (Nouwen et al, 2004 ;Bishoff et al, 2004). Selon Schaumburg et al., 2014) . Le schéma de distribution de *S. aureus* dans les différents groupes d'âge est similaire en Afrique et en Europe, avec des taux élevés immédiatement après la naissance et chez les personnes âgées.

Selon les résultats de notre étude, il existe un rapport entre le risque d'infection et l'âge, c'est le même résultat trouvé par Garnier et al., (2002) qui estiment que la pathogénicité de *S. aureus* est prédominante chez les adultes et l'âge avancé >35ans qui est un facteur favorisant les infections à *S.aureus* (Garnier et al., 2002 ; Ghali et Mostefai 2019).

Les sujets âgés ont non seulement une altération physiologique de leur système immunitaire, mais aussi, fréquemment différentes pathologies chroniques favorisant la survenue des infections.

II.3.6. Répartitions des souches selon la provenance

Nous avons constaté, au cours de notre étude, que les *S. aureus* sont le plus souvent isolées dans les infections hospitalières avec un taux de 58,33%, distribuée comme suit 33,33% des souches proviennent du service néphrologie suivi par le service de pédiatrie avec un taux de 16,67% et le service d'ophtalmologie soit 8,33%. En ce qui concerne, les infections communautaires en a enregistré un taux de 41,67% (Tableau VI).

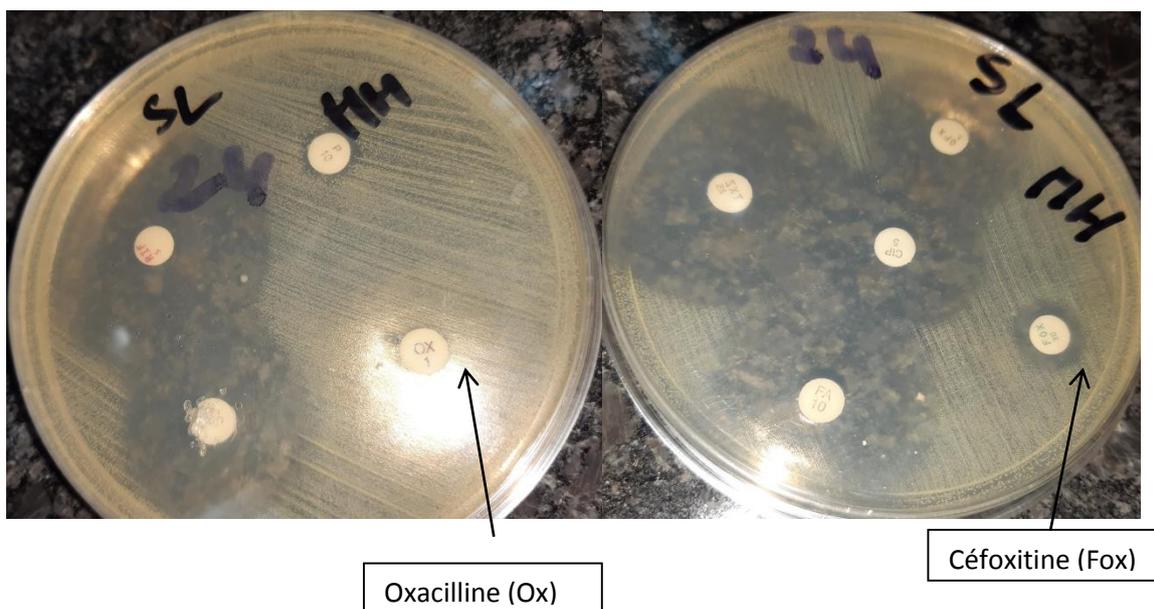
Tableau VI : Répartition des souches isolées selon la provenance

Provenance		Nombre de <i>S. aureus</i>	Pourcentage
Milieu hospitalier	Néphrologie	8	33,33 %.
	Pédiatrie	4	16,67 %.
	Ophthalmologie	2	8,33 %.
Externe		10	10 %.

Cette dissémination peut s'expliquer par la fragilité des patients du service néphrologie (patients en hémodialyse chronique), le manque d'hygiène et le manque de contrôle des soins paramédicaux comme le changement de gant pour chaque malade, le contrôle d'asepsie ainsi que le non-respect des règles de visite du malade.

II.3.7. Prévalence des souches SARM

Sur un total de 250 prélèvements positifs, 24 souches se sont révélées des *Staphylococcus aureus*. D'après les résultats obtenus à partir des antibiogrammes standards et diamètre des zones d'inhibition (mm) obtenues (Figure 27), 10 souches de *S. aureus* résistant à la méthicilline SARM soit 41,67% ont été détectés (souches résistantes à la céfoxitine et l'oxacilline) ainsi 14 souches sensibles à la méthicilline SASM soit 58,33% (Figure 28).

**Figure 27**: Résultats d'antibiogramme classique en milieu gélosé.

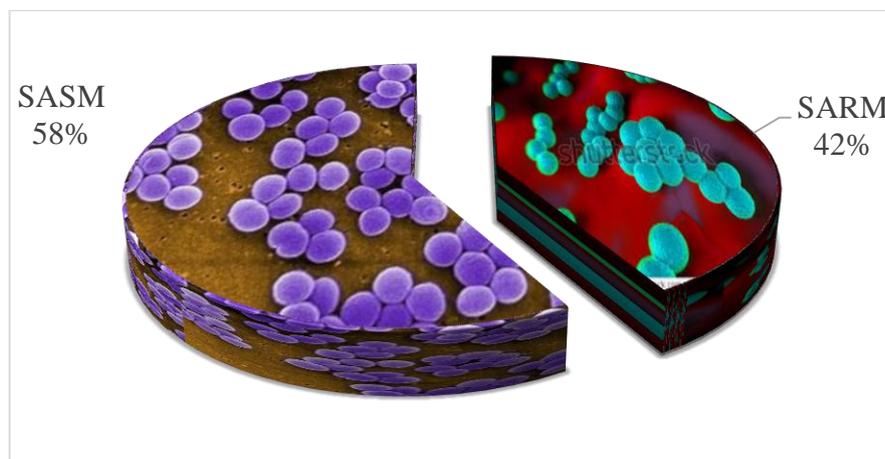


Figure 28 : Prévalence des SARM dans la population de *S. aureus*.

La prévalence trouvée dans notre étude (41,67%) est presque la même relevée par le réseau national de surveillance de l'antibiorésistance dans son dernier rapport (40,95%) (AARN, 2018).

Depuis son premier isolement par **Jevons en 1960**, le SARM s'est progressivement répandu dans les hôpitaux et la communauté, tout en étant de plus en plus difficile à traiter (Walrath et al., 2016).

En Europe, Selon les données de l'Atlas de surveillance de Centre européen de prévention et de contrôle des maladies ECDC en 2018, la prévalence des SARM varie de 10% à 25% en France, Pologne, Irlande et en Espagne et avec un taux supérieur à 50% à l'Italie, la Grèce, la Roumanie, Portugal et Malte.

Des taux de prévalence très élevés de SARM sont également détectés en Asie de l'Est. Une étude de surveillance multinationale a été réalisée par **Song et al. en 2011** et a déterminé la prévalence du SARM dans différents pays asiatiques. Ils ont conclu que HA-MRSA représentait 86,5% au Sri Lanka, 74,1% au Vietnam, 77,6% en Corée du Sud, 65% à Taïwan, 57% en Thaïlande et 56,8% à Hong Kong. Cependant, les valeurs de prévalence étaient beaucoup plus faibles en Inde et aux Philippines, soit respectivement 22,6% et 38,1%

En Chine, la proportion de SARM a atteint 50,4% (**Shang et al., 2016**). Tandis qu'en Afrique du Sud, la prévalence est passée de 36% en 2006 à 24% au cours de la période 2007-2011. Au Botswana, la prévalence a varié de 23 à 44% entre 2000 et 2007.

En Algérie et en Égypte, la prévalence était de 45% et 52% entre 2003-2005, respectivement. Au Nigéria, la prévalence était plus élevée dans le nord que dans le sud. En Éthiopie et en Côte d'Ivoire, la prévalence était respectivement de 55% et 39%. La prévalence du SARM était inférieure à 50% dans la plupart des pays Africains, (**Falagas et al., 2013**).

Donc, il existe des variations considérables de la prévalence des SARM entre les Hôpitaux, les régions et les pays. Ces variations peuvent être expliquées par l'existence ou non des souches épidémiques, le moment de l'étude, la présence de patients à risques, le transfert de patients entre différents services, la pratique d'une politique de contrôle des infections et la fiabilité des méthodes de laboratoire utilisées pour la détection des SARM. Une hypothèse a été décrite par **Borg et al. (2007)** qu'une variation de SARM entre les hôpitaux dans un même pays donne à penser que le pays connaît actuellement un essor des infections à SARM dans les hôpitaux.

C'est le cas de l'Algérie dont les prévalences des SARM est différente d'un hôpital à un autre. Par exemple, la prévalence des SARM au Centre CHU Mostapha Bacha à Annaba été rapportée à 44.6%, (**Touaitia, 2016**) au CHU Ben Badis de Constantine une étude faite en 2010 (**Aouati et al, 2010**) a donné une prévalence de 32,7%. Une autre étude faite à Blida en 2018 au CHU Frantz Fanon a donné une prévalence des SARM de 5,43% (**Ouidri, 2018**).

L'Espagne présente aussi des taux très hétérogènes en fonction des villes, passant de 9% à Barcelone à 34% à Séville (**Falagas et al., 2013**).

En revanche des taux très bas ont été observés en Europe de Nord <1. Ceci est peut-être le résultat d'une politique de dépistage agressive, d'isolement des patients colonisés et d'une politique d'antibiothérapie (**Touaitia, 2016**).

II.3.8. Répartition des SARM selon la nature de prélèvement

Les souches SARM étaient isolées essentiellement à partir des pus (50%), suivies des urines avec un taux de (30%) et l'hémoculture (20%). Aucun, SARM n'a été détecté dans les prélèvements de LCR.

TableauVII : Prévalence des SARM dans la population de *S. aureus*.

Type de prélèvements	Nombre de prélèvements	Fréquence
Pus	5	50,00%
Urine	3	30,00%
Hémoculture	2	20,00%
LCR	0	0,00%
Total	10	100,00%

II.3.9. Répartition des SARM selon le sexe

Dans le tableau VIII, nous détaillons la répartition des souches de SARM selon le sexe, 06 souches ont été isolées des hommes et 4 souches à partir de femmes.

TableauVIII : Répartition des SARM isolés selon le sexe.

Sexe	Effectifs	Pourcentage
Masculin	6	60,00%
Féminin	4	40,00%
Total	10	100,00%

II.3.10. Répartition des souches SARM selon l'âge

D'après les résultats représentés dans la figure 29, le taux de SARM le plus élevé est représenté par la tranche d'âge de 45 à 60ans (40%), suivi par la catégorie 18 à 45ans et 0 à 18ans avec un taux de 30% et 20% respectivement et la catégorie d'âge allant plus de 60 ans avec un taux plus faible (30%).

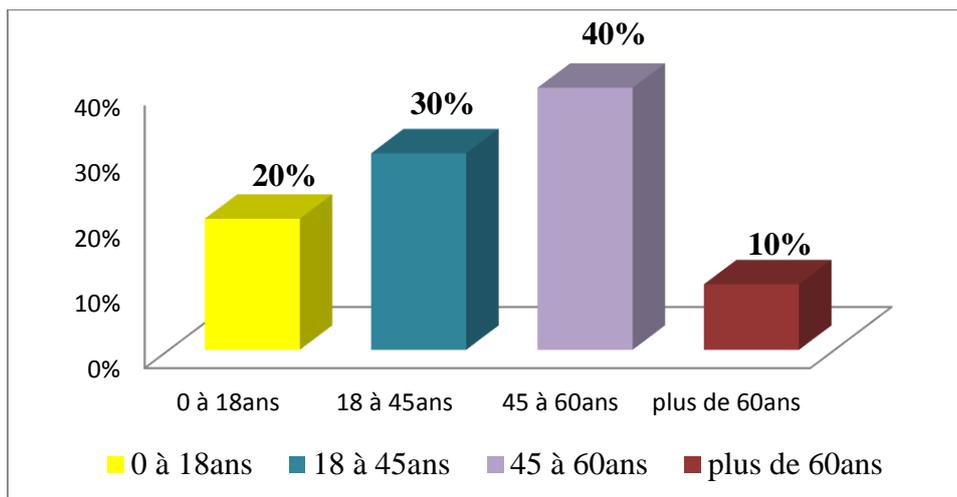


Figure 29 : Répartition des SARM selon les catégories d'âge.

II.3.11. Répartitions des SARM selon la provenance

Comme le montre le Tableau IX, les souches SARM sont retrouvées essentiellement dans les prélèvements de service néphrologie (5 souches avec un taux de 50%). En effet ce service est un des secteurs de l'hôpital où la transmission croisée est élevée (présence de service hémodialyse), suivi par deux souches isolées de service pédiatrie. Les trois souches qui restent ont été isolées des patients externes mais malheureusement nous n'avons pas des données concernant leur historique d'hospitalisation ou d'antibiothérapie.

Tableau IX : Répartition des SARM isolés selon le service

Services	Nombre	Pourcentage
Néphrologie	5	50,00%
Pédiatrie	2	20,00%
Externe	3	30,00%
Ophtalmologie	0	0,00%

II.3.12. Sensibilité des souches *S. aureus* aux antibiotiques

Après isolement et identification des *S. aureus*, une étude du profil d'antibiorésistance de 24 souches a été effectuée en utilisant la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques imprégnés d'antibiotiques afin de mettre en évidence la résistance bactérienne aux antibiotiques. Les résultats sont résumés dans le tableau X et XI.

En effet l'évaluation de la résistance ou la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées à partir des dispositifs médicaux, aux niveaux de différents services s'avère d'une importance primordiale, vu qu'elle oriente le choix des traitements et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques.

Tableau X : Répartition des *S. aureus* selon leurs résistances et sensibilités aux antibiotiques

Antibiotiques testés	Nb de souches résistantes	Pourcentage	Nb de souches sensibles	Pourcentage
Quinupristine-Dalfopristine(QDF)	3	12,50%	21	87,50%
Tétracycline (TE)	4	16,67%	20	83,33%
Erythromycine (E)	7	29,17%	17	70,83%
Clindamycine (CMN)	7	29,17%	17	70,83%
Rifampicine(RIF)	1	4,17%	23	95,83%
Pénicilline (P)	18	75,00%	6	25,00%
Oxacilline (OX)	17	70,83%	7	29,17%
Chloramphénicol (C)	0	0,00%	24	100,00%
Levofloxacine (LVX)	3	12,50%	21	87,50%
Gentamicine (GMI)	2	8,33%	22	91,67%
Vancomycine (VAN)	1	4,16%	23	95,83%
Teicoplanine (TEC)	0	0,00%	24	100,00%
Ciprofloxacine (CIP)	2	8,33%	22	91,67%
Triméthoprime+sulfaméthoxazole (SXT)	0	0,00%	24	100,00%
Céfoxitine (FOX)	10	41,67%	14	58,33%
Ofloxacine (OFX)	3	12,50%	21	87,50%
Acide fusidique (FA)	6	25,00%	18	75,00%

Tableau XI : Les résistances de *S. aureus* aux antibiotiques selon la nature de prélèvements.

ATB \ Prélèvement	QDF	TE	E	CMN	RIF	P	OX	C	LVX	GMI	VAN	TEC	CIP	SXT	FOX	OFX	FA
PUS	2	1	2	3	0	8	7	0	1	1	0	0	1	0	5	2	4
Urines	0	2	3	3	0	7	7	0	1	0	0	0	1	0	3	0	1
Hémocultures	1	1	1	1	1	3	3	0	1	1	1	0	0	0	2	1	1
LCR	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

D'après nos résultats (Tableau XI) les souches issues de pus sont plus résistantes en comparaison avec celles isolées des urines et des hémocultures. En revanche la souche la plus sensible est celle isolée du LCR.

➤ **Résistance de *S. aureus* à la famille de β -lactamines**

Le profil de résistance des 24 souches de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des trois (3) antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (Figure 30) a révélé que toutes les souches présentent une résistance aux bêta-lactamines. De même, les plus fortes résistances sont observées avec la pénicilline (75%), l'oxacilline (70,83%) et à la céfoxitine 41,67%.

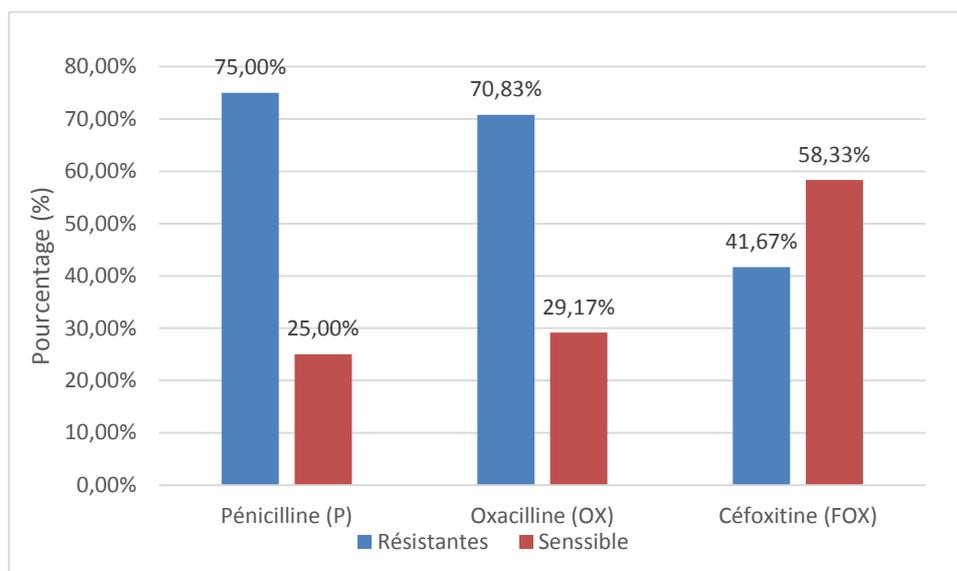


Figure 30. Taux de résistance et de sensibilité des souches de *S.aureus* à la famille de β -lactamine

Dans notre étude, le taux de résistance à la pénicilline G est inférieur à celui trouvé par Tasse (2017) et par Ghali et Mostefai (2019) qui rapportent que 90% et 100% des souches de *S. aureus* sont résistantes à la pénicilline G et l'ampicilline respectivement, par production de pénicillinase qui inactive la pénicilline G et l'ampicilline, rendant leurs indications obsolètes dans le cadre d'une infection à *S. aureus*. Le gène de la pénicillinase appartient à un transposon localisé le plus souvent sur un large plasmide (Lazaris, 2017).

Dans cette étude, la résistance des souches isolées à l'oxacilline est également inférieure aux valeurs trouvées par Ghali et Mostefai (2019) (100%). En revanche elle est proche à de celles de Koinam à 80% (Koinam *et al.*, 2017) et ce qui souligne que la résistance des Staphylocoques à l'oxacilline est intrinsèque, d'origine chromosomique (Koinam *et al.*, 2017).

La plupart des souches se sont révélées sensibles à la céfoxitine (58,33%). Le taux de résistance que nous avons trouvé (41,67%) est loin des valeurs de la littérature (Schaumburg *et al.*, 2014 ; Chergui et Bilal, 2019).

➤ Résistance de *S. aureus* à la famille des macrolides

Nous avons testé trois antibiotiques de cette famille l'érythromycine, la clindamycine et la Quinupristine-Dalfopristine (QDF). Les résultats sont illustrés par la figure 31.

Selon nos résultats, l'érythromycine et la clindamycine ont présenté tous les deux un taux de résistance de 29,17%. Ces valeurs sont presque similaires à ceux de **Pascal, (2015)** pour la Clindamycine en Espagne (22,90%). Par contre se sont inférieurs aux résultats de **Kiptoo , (2012)** au Maroc qui a trouvé un taux de 52.4%, les résultats de **Mastouri et al., (2006)** en Tunisie (49%) et les résultats de **Ghali et Mostefai, (2019)** en Algérie (60%).

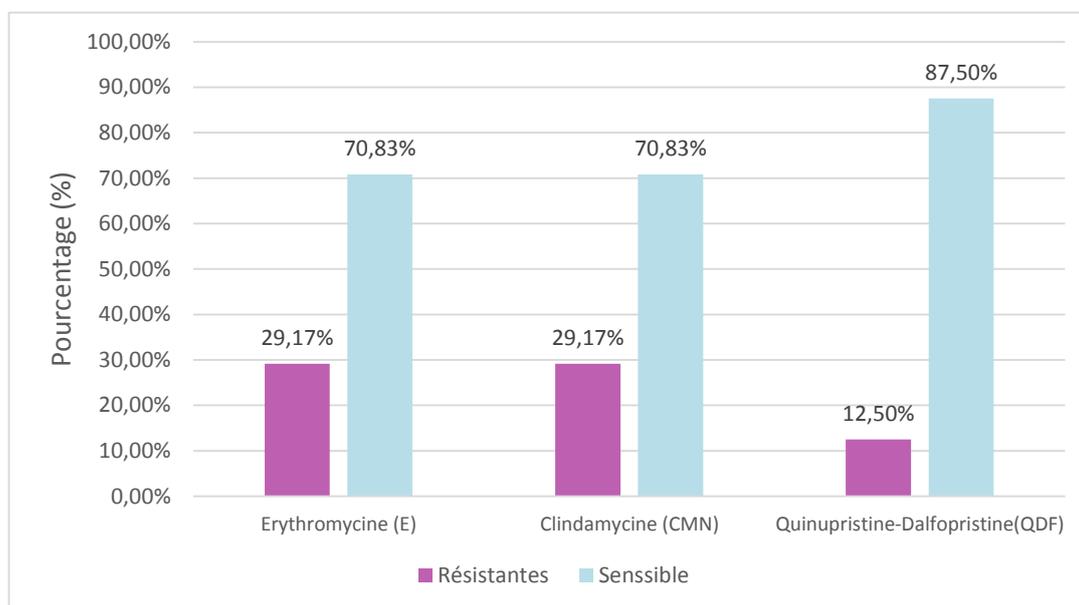


Figure 31 : Taux de résistance et de sensibilité des souches de *S.aureus* à la famille des macrolides.

De même, nous avons constaté les mêmes valeurs lorsque nous avons comparé nos résultats à d'autres études à l'échelle internationale. Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Abbas en Inde, Schaumburg et al.,** en Allemagne, ainsi que Lina en France, qui ont rapportés des taux de 53.3%, 40.20%, et 76.9% respectivement (**Schaumburg et al., 2014; Abbas et al., 2015 ; Lina, 1999**).

Les études génotypiques ont démontré l'intervention de la pompe à efflux dans la résistance au macrolide. Comme le signalent **Lina et al., (1999)** au cours de leur étude, la présence du gène *msr A* a été détectée pour seulement 2,1 % des isolats de *S. aureus* résistants aux macrolides (**Lina et al., 1999**). **Ghanbari et al., (2016)** ont confirmé que cette

résistance est due à une mutation ponctuelle au niveau des adénines 2058 ou 2059 dans le gène de l'ARN ribosomal 23S (**Ghanbari et al., 2016**).

- **Quinolones**

Les souches restent relativement sensibles aux quinolones, soit un taux de 12.50%, étaient résistantes à l'ofloxacin et levofloxacin et 8,33% étaient résistantes à la Ciprofloxacin (Figure 33).

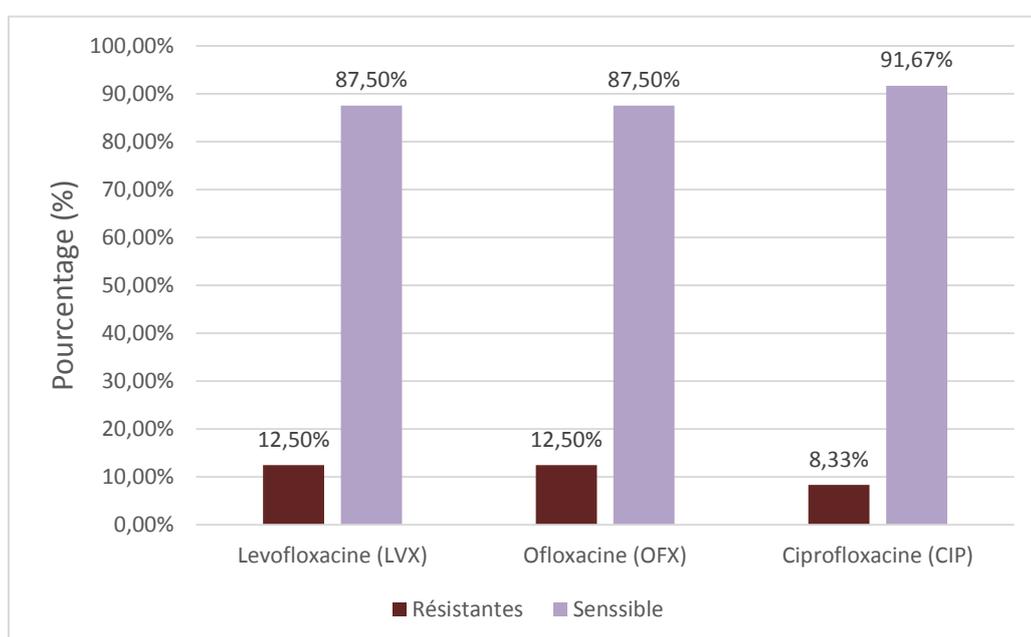


Figure 33 : Taux de résistance et de sensibilité des souches de *S.aureus* à la famille des Quinolones.

De nombreuses études ont rapportées l'apparition des taux de résistances élevés aux quinolones à partir des années 1990, suite à une large utilisation (**Muller et al., 2003**) qui est due à l'acquisition progressive de mutations chromosomiques spontanées dans la cible de l'antibiotique ou par l'induction d'une pompe d'efflux multidrogue (**Gheorghe et al., 2018**).

En collaboration avec l'Organisation Mondiale de la Santé, une étude a été menée à New Delhi, (Inde) en 2011 sur l'apparition des résistances aux antibiotiques et la large utilisation. Les plus prescrits étaient les fluoroquinolones (ofloxacin, ciprofloxacin,

levofloxacin, et norfloxacin), suivi par les céphalosporines et les pénicillines (**Kotwani et Holloway, 2011**).

➤ Glycopeptides

La vancomycine a montré une bonne activité sur nos souches. Dans notre étude 23 souches ont été sensibles avec un taux de 95,30% et une seule souche s'est révélée intermédiaire (VISA). La même constatation a été notée dans d'autres études qui ont démontré que la Vancomycine est deux à huit fois plus actives que les autres antibiotiques testés contre la majorité des staphylocoques (**Kiptoo, 2012**).

La Vancomycine a été mise sur le marché depuis 30 ans et est le médicament de choix pour le traitement des infections graves causées par les bactéries à Gram positif dans de nombreux hôpitaux. Toutefois, son utilisation abusive aboutit à l'apparition des résistances. Différentes études ont rapporté l'isolement des souches de *S.aureus* intermédiaires ou résistantes à ces antibiotiques (**Pascale, 2015**).

La Teicoplanine (TEC) était active sur les 24 souches testées.

➤ Autres antibiotiques

D'autres résistances ont été détectées vis-à-vis d'autres antibiotiques testés : tétracycline (16,67%), rifampicine (4,17%) et l'acide fusidique (25%). Aucune résistance n'a été observée vis-à-vis chloramphénicol, teicoplanine et cotrimoxazole.

La Rifampicine a été pondéralement plus actives exprimant des taux de sensibilité de 95,83% ce résultat est proche aux résultats trouvés par **Rebaihi, (2012)** et **Ghali et Mostefai, (2019)**, elle représente un taux de sensibilité 90 % et 80% respectivement. L'utilisation de cet antibiotique en Algérie a été relativement délaissée au profit de nouvelles molécules ; ce qui pourrait expliquer la restauration de son efficacité.

II.3.12. Sensibilité des souches SARM aux autres antibiotiques

La résistance à la méthicilline (oxacilline) des 10 souches du *Staphylococcus aureus* est associée à d'autres familles d'antibiotiques. Le tableau XII et XIII montrent la fréquence de ces résistances associées. Selon nos résultats le chloramphénicol, la teicoplanine, Trimethoprim + sulfamethoxazole et la vancomycine ont été constamment actifs et peuvent être de bonnes alternatives thérapeutiques. Ces résultats corroborent avec ceux trouvés par **Rebiahi et al., (2011)** et ceux rapportés par **Mastouri et al., (2006)**.

La résistance aux antibiotiques des souches de SARM était variable. La plus part des souches étaient multirésistantes (résistances à plus de trois familles d'antibiotiques).

TableauXII : Répartition des SARM selon leurs résistances et sensibilités aux antibiotiques

Antibiotiques testés	Nb de souches résistantes	Pourcentage	Nb de souches sensibles	pourcentage
Quinupristine-Dalfopriline(QDF)	2	20%	8	80%
Tétracycline (TE)	1	10%	9	90%
Erythromycine (E)	2	20%	7	80%
Clindamycine (CMN)	4	40%	6	60%
Rifampicine(RIF)	1	10%	9	90%
Pénicilline (P)	10	100%	0	00 %
Oxacilline (OX)	10	100%	0	00%
Chloramphénicol (C)	0	0,00%	10	100,00%
Levofloxacin (LVX)	2	20%	8	80%
Gentamicine (GMI)	2	20%	8	80%
Vancomycine (VAN)	1	10%	9	90%
Teicoplanine (TEC)	0	0,00%	10	100,00%
Ciprofloxacine (CIP)	1	10%	9	90%
Triméthoprime+sulfaméthoxazole (SXT)	0	0,00%	10	100,00%
Céfoxitine (FOX)	10	100%	0	00%
Ofloxacine (OFX)	2	20%	8	80%
Acide fusidique (FA)	3	25,00%	7	75,00%

Tableau XIII : Les résistances des SARM aux antibiotiques selon la nature de prélèvements.

ATB \ Prélèvements	QDF	TE	E	CMN	RIF	P	OX	C	LVX	GMI	VAN	TEC	CIP	SXT	FOX	OFX	FA
Pus	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
	S	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	S	R	R	R
	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
Urines	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Hémoculture	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
	R	R	I	R	S	R	R	S	R	I	I	S	S	S	R	R	R

La totalité des souches SARM ont été résistantes à la Pénicilline et à la Céfoxitine. Cette résistance est due au gène *mecA* ou *mecC*, que possèdent les SARM et qui code une PLP additionnelle, appelée PLP2a ou PLP2c, qui ne possède aucune affinité pour les bêta-lactamines, sauf pour la ceftaroline. Ce gène s'est très rapidement répandu chez les souches du genre *Staphylococcus* (Vestergaard, *et al.*, 2019).

Cependant, la paroi bactérienne synthétisée par la PLP2a comporte des altérations morphologiques (diminution du degré de réticulation, prédominance de monomères ou dimères) qui ne sont pas favorables à la bonne croissance de la bactérie.

La résistance à la Clindamycine est non négligeable, 4 souches parmi les 10 se sont révélées résistantes. A cause de la variabilité d'utilisation de cet antibiotique, plusieurs études ont apporté des résultats différents de résistance des SARM en fonction des régions géographiques, des hôpitaux, des groupes des patients. Dans notre étude, nous avons trouvé un taux de résistance élevé 40%.

Selon **Lakhundi, et Zhang, (2018)**, cette résistance est due à une méthylation de l'ARN 23S au niveau d'une seule adénine à la position 2058 ce qui empêche la fixation de toutes les molécules de la famille des macrolides.

Nous avons constaté aussi que la résistance aux autres antibiotiques est moins importante.

Trois souches parmi les dix souches SARM ont été résistantes à l'acide fusidique et deux parmi les dix étaient résistantes vis-à-vis de Quinupristine-Dalfopristine(QDF), l'érythromycine, la levofloxacine, Gentamicine et Ofloxacine.

A cause de la taille réduite de notre échantillon, il est difficile de comparer nos résultats avec des études antérieures. Cependant il faut signaler que selon le Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques, la résistance à la gentamicine des SARM en Algérie montre que son taux est globalement en progression elle était de l'ordre de 7% en 2006 Actuellement, elle se situe à 23,99% (**AARN,2018**).

II.3.13. Répartition des souches SARM selon la CMI

La CMI est la plus petite concentration de l'antibiotique qui inhibe toute croissance bactérienne. Elle a été déterminée par la méthode E-test. Après la période d'incubation, la valeur de **CMI** exprimée en $\mu\text{g/mL}$ se lit directement sur l'échelle graduée à l'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette de la vancomycine (Figure 33).

D'après le tableau ci-dessous, on constate que toutes les souches de *S.aureus* sont résistantes à une concentration inférieur ou égale $0,75 \mu\text{g/ml}$, alors que 90,9% des souches présentent une CMI de $1 \mu\text{g/ml}$ et $1,5 \mu\text{g/ml}$. Seulement une souche est inhibée à une CMI égale à $4 \mu\text{g/ml}$.

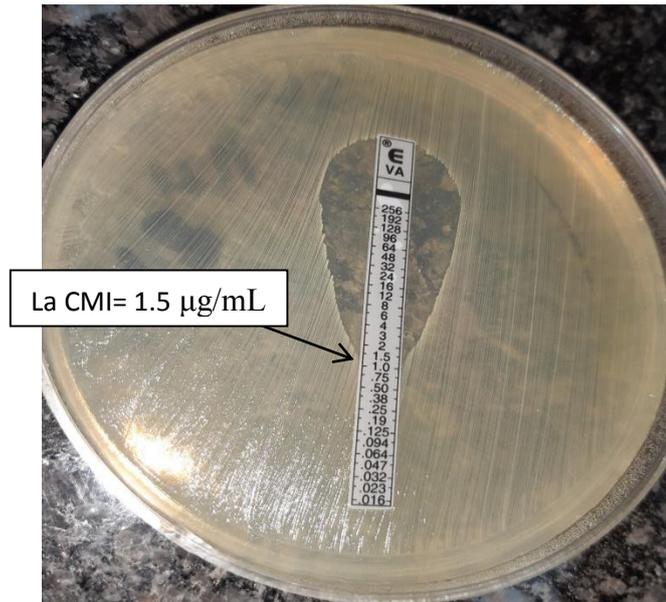


Figure 33: La CMI de la vancomycine sur milieu gélosé (E-test)

Tableau XIV: Répartition des *S.aureus* selon les CMI

C (µg/ml)	[0.16-0.50]	0.75	1	1.5	2	3	4	[6-256]
Nombre de <i>S.aureus</i>	0	1	11	11	0	0	1	0
Pourcentage (%)	0	4,17	45.83	45.83	0	0	4.17	0

Le tableau ci-dessous présente la répartition des SARM selon les CMI. Toutes les souches sont résistantes à une concentration inférieure ou égale 1 µg/ml. Cependant 90% des SARM ont montré une CMI de 1 µg/ml et 1,5 µg/ml. Une seule souche a été détecté comme intermédiaire (CMI= 4µg/ml).

TableauXV : Répartition des SARM selon les CMI

C (µg/ml)	[0.16-0.50]	0.75	1	1.5	2	3	4	[6-256]
Nombre de SARM	0	0	6	3	0	0	1	0
Pourcentage (%)	0	0	60	30	0	0	10	0

La sensibilité diminuée de *S. aureus* aux glycopeptides pose un problème d'actualité. Différentes études rapportent l'isolement de souches de *S. aureus* de sensibilité intermédiaires ou résistantes à ces antibiotiques (**Hiramatsu et al, 1997**). La première description d'une souche de SARM de sensibilité diminuée à la vancomycine (VISA) était au Japon en 1997. Ces souches de SARM sont sensibles à la vancomycine (CMI 2-4 mg/L) mais présentent des sous-populations intermédiaires à la vancomycine (CMI 6-8 mg/L) (**Daurel et Leclercq 2008 ; AARN, 2018**).

Mastouri et al (2006), ont isolé deux souches ayant une sensibilité diminuée : la souche M4 (CMI vancomycine = 6 µg/ml, CMI teicoplanine = 32 µg/ml) a été isolée d'hémoculture chez un malade qui est décédé d'une septicémie à SARM après échec thérapeutique (**Touaitia, 2016**).

La délétion du gène *mecA* chez certaines souches de *S. aureus* ayant une résistance intermédiaire à la vancomycine suggère que la résistance simultanée aux β-lactamines et aux glycopeptides est un fardeau pour cette espèce (**Patel et al, 2008 ; Touaitia, 2016**).

La sensibilité réduite à la vancomycine a rapidement conquis le monde avec des cas signalés aux Etats Unis, en Europe et en Afrique (**Tacconelli et al, 2007**). Cette dissémination a été accompagnée d'une évolution terminologique ; ainsi, les souches qualifiées autrefois de sensibles selon le *National Committee for Clinical Laboratory Standards* se sont retrouvées assignées à la classe des intermédiaires (VISA) selon les nouvelles lignes directrices du CASFM et CLSI (**Touaitia, 2016**).

CONCLUSION GENERALE
ET
RECOMMANDATIONS

La résistance aux antibiotiques est un sujet majeur et problématique de société et de santé publique, c'est une menace sans frontières. Au fil des années, ces résistances se sont émergées dans tous les domaines : vétérinaires, hospitaliers mais aussi en ville. Il est donc important de maîtriser les profils épidémiologiques des germes impliqués et leurs sensibilités aux antibiotiques.

Staphylococcus aureus demeure parmi les pathogènes les plus importants et les plus concernés par ce phénomène et leur multirésistance reste un problème d'actualité et un sujet de préoccupation légitime à cause de son pouvoir pathogène et son changement potentiel. L'émergence de ces souches ne doit être ni sous-estimée ni surestimée.

Cette étude prospective a porté sur 600 prélèvements cliniques recueillis au niveau de laboratoire de microbiologie du Centre hospitalier universitaire Nafissa Hamoud.

Les résultats de l'identification ont permis d'isoler 24 souches de *S. aureus* et l'évaluation de leurs niveaux de résistance aux antibiotiques a permis de mettre en évidence 10 souches (SARM) résistantes à la méticilline.

D'après les résultats obtenus la prévalence des souches de *S. aureus* était 12,40%. Elle varie selon le type de prélèvement, les pus (50%), hémoculture (12,5%), LCR (4,17%) et les urines (33,33%), et varie selon le sexe, les hommes (62,50%) et les femmes (37,50%) et selon les services dont le pourcentage le plus élevé a été enregistré dans le service néphrologie (33,33%). Il faut noter que 41,67 % des souches ont été isolées des patients externes.

Le profil de résistance des 24 souches varie considérablement selon la famille et le type d'antibiotique. Les meilleures sensibilités antibactériennes ont été observées avec le Chloramphénicol et Trimethoprim+ sulfaméthoxazole (SXT) (100%), la Rifampicine et la Vancomycine (95,83%), la Ciprofloxacine (CIP) (91,67%), l'Ofloxacine, la Quinupristine-Dalfopristine et Levofloxacine (87,50%). En revanche les importantes résistances ont été obtenues avec la Pénicilline (75,00%) et l'oxacilline (70,83%).

La résistance à la méthicilline (oxacilline) des 10 souches du *Staphylococcus aureus* était associée à d'autres familles d'antibiotiques.

Selon nos résultats le chloramphénicol, la teicoplanine, Triméthoprime+sulfaméthoxazole et la vancomycine sont les plus actifs et peuvent être de bonnes alternatives thérapeutiques.

Les résultats de cette courte étude nous incitent à proposer quelques recommandations :

- 1- Renforcement de l'application des mesures générales d'hygiène, et plus précisément l'hygiène des malades et de l'environnement hospitalier, le lavage fastidieux des mains et le port de gants.
- 2- Informer et sensibiliser les patients sur les circonstances d'utilisation des antibiotiques abusives, que ce soit de la part du médecin, du pharmacien ou par l'automédication via des campagnes de sensibilisation.
- 3- Il convient aux médecins d'expliquer à leurs patients, l'importance de respecter la durée de traitement.
- 4- Implication et collaboration entre tous les professionnels de la santé : médecins, pharmaciens, Biologistes chercheurs universitaires, ingénieurs de laboratoires et autres, pour lutter contre l'émergence de ces germes multi résistants.
- 5- Il est nécessaire d'évaluer dans un cadre clinique des méthodes de détection de SARM plus modernes, y compris moléculaire car les méthodes classiques de détection sont lentes, et prennent souvent jusqu'à 72 heures pour confirmer leur présence ce qui donne le temps à la bactérie de se multiplier et exprimer leurs facteurs de virulence.

En perspective, les résultats obtenus au cours de cette étude restent préliminaires et méritent d'être exploités et complétés par :

- La détermination phénotypique et génotypique des mécanismes de résistance aux antibiotiques par technique de biologie moléculaire
- Elargir l'échantillon et la durée de l'étude.
- Faire une étude comparative entre plusieurs régions en Algérie.
- Tester l'effet antibactérien des molécules de phytothérapie comme les extraits naturels et les huiles essentielles contre nos ces souches pour établir des traitements alternatifs.

Références bibliographiques

A

- Abbas, A., Srivastava, P., Nirwan, P. (2015).** Prevalence of MLSB resistance and observation of erm A & erm C genes at a tertiary care hospital. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(6) . p. 25.
- Accarias, S. (2014).** Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France. p.19.
- Al-Khafaji, A.N.(2018).** Isolation and Identification of Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* and Detection their Ability to the Production of Virulence Factors, *Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences*, 26 (8). p.65.
- Angele, M. K., Pratschke, S., Hubbard, W. J., et Chaudry, I. H. (2014).** Gender differences in sepsis: cardiovascular and immunological aspects. *Virulence*, 5(1), p.12-19.
- Anuj, S. A., Gajera, H. P., Hirpara, D. G., and Golakiya, B. A. (2019).** Interruption in membrane permeability of drug-resistant *Staphylococcus aureus* with cationic particles of nanosilver. *Eur. J. Pharm. Sci.* 127, p. 208–216.
- Arumugam, G. Hariharan, P. et Paul-Satyaseela, M. (2017).** *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. In *Frontiers in Staphylococcus aureus*. IntechOpen, p.4-28
- Astley, R., Miller, F.C., Mursalin, M.H., Coburn, P.S., Callegan, M.C.(2019).** An Eye on *Staphylococcus aureus* Toxins: Roles in Ocular Damage and Inflammation. *Toxins*, 11, p.356.
- Aouati, H.(2009).** Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline ,Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Thèse de doctorat .Université Mentouri. Constantine p.39-52.
- Aouati, H. Arafa, N. Benlabed, K. Boulahrouf, A. Bousseboua, H. (2010).** Methicillinresistant *Staphylococcus aureus* at university hospital center Ben Badis of Constantine Algeria. *Rev Tunis Infect.* 4, p. 129-133.
- Azizi, H. et Askeur,S.(2019) .** Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des isolats d'hémoculture à l'Etablissement Publique Hospitalier de Boufarik. Mémoire de Master. BOUIRA Université Akli Mohand Oulhaj – Bouira

B

Belkum, V.A., Verkaik, N. J ., Vogel, C. P., Boelens, H.A., Verveer, J ., Nouwen, J.L., Verbrugh, H.A., Wertheim, H.F. (2009) . Reclassification des types de portage nasal de *Staphylococcus aureus* . J. Infect. Dis. 199, p. 1820 – 26 .

Bellini, C. et Troilet, N. (2016). Résistance aux antibiotiques : état des lieux en Europe et en Suisse et impact pour le praticien. Rev Med, 12, p. 1699-1702.

Benoudai, A., Elhamzoui, S.(2020). *Staphylococcus.aureus* épidémiologie et prévalence des souches résistantes a la methicilline (SARM) au Maroc Rev Tun Infectiol, 3(1), p.15 – 20.

Bishoff, W., Wallis, M., Tucker, K.(2004). *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a student community : prevalence, clonal relationships, and risk factors. Infect Control HospEpidemiol , 25,p. 91–485.

Bitrus, A.A., O.M. Peter, M.A. Abbas et M.D. Goni. (2018). *Staphylococcus aureus*: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms. Veterinary Sciences: Research and Reviews, 4(2), p. 43-54.

Bobay, L.M.(2014). L'évolution des phages tempérés d'entérobactéries. Thèse de doctorat Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2014. France .

Bousnane, N.E. et Aissuo, M. (2018). Etude de la résistance aux antibiotiques des souches *Staphylococcus aureus* isolées du milieu hospitalier. Mémoire de Master, Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi, Algérie. p.40.

Borg, M.A., Marlieke, K., Elizabeth, S., Nienke, S., Edine, T. et al.(2007). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in invasive isolates from southern and eastern Mediterranean countries J. Antimicrob. Chemother, 60, p.1310-1315.

Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., et Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature reviews microbiology, 13(1), p.42-51.

Bronner, S., Monteil, H., Prévost, G. (2004). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev* .28(2), p. 183-200.

Brown, S., Xia, G., Luhachack, L.G., Campbell, J., Meredith, T.C., Chen, C.(2012). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* requires glycosylated wall teichoic acids. Proc Natl Acad Sci U S A.109, p. 18909–18914.

Buckingham, S.C. McDougal, L.K. Cathey, L.D. (2004). Emergence of community associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee Children’s Hospital. *Pediatr Infect Dis J.* 23, p.619-624.

Bukowski, M., Wladyka, B., Dubin, A. et Dubin, G. (2018). The Staphylococcal Exfoliative Toxins. In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. 1ère édition. Elsevier Inc, p. 127-133.

Brulé, N., Jaffré, S., Chollet, S., Germaud, P., & Chailleux, E. (2008). Pneumonie nécrosante à *Staphylococcus aureus* sécréteur de la toxine de panton valentine. *Revue des maladies respiratoires*, 25(7), 875-879.

C

Caby, F., Bismuth, R. et Bossi, P. (2010). Infezioni da stafilococco. EMC trattato di Medicina AKOS. Elsevier, 12(3), p. 1-7.

Cheesman M. J., Ilanko A., Blonk B. et Cock I.E. (2017). Developing new antimicrobial therapies: Are synergistic combinations of plant extracts/compounds with conventional antibiotics the solution? *Pharmacogn Rev*, 11 (22) , p. 57-72.

Chemsî, H., Moutaouakkil, Y., Chadli, M., et Sekhsokh, Y. (2014). Dépistage du portage nasal du *Staphylococcus aureus* lors de l’admission des patients à l’Hôpital Militaire d’Instruction Mohammed V. *Journal Marocain des Sciences Médicales*, 19(3), p.20-25.

Clarke, S.R., Foster, S.J.(2006). Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol*,51, p187–224.

Cocchiario, J.L., Gomez, M.I., Risley, A., Solinga, R., Sordelli, D.O., Lee, J.C.(2006). Molecular characterization of the capsule locus from non-typeable *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*, 59, p.948–60.

Craft, K. M., Nguyen, J. M., Berg, L. J., et Townsend, S. D. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. *Medchemcomm* 10, p. 1231–1241

Cunnion, K.M., Lee J.C., Frank, M.M.(2001). Capsule Production and Growth Phase Influence Binding of Complement to *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun*, 69, p. 6796–803.

D

Da Silva, N.,Taniwaki, M. H., Junqueira, V. C., Silveira, N., Okazaki, M. M., et Gomes, R. A. R. (2018). Microbiological examination methods of food and water: a laboratory manual. CRC Press.456p

Daurel, C., Leclercq, R. (2008). L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*. 407 , p.81-90.

Defres, S. (2009). MRSA as a cause of lung infection including airway infection, community-acquired pneumonia and hospital-acquired pneumonia. *European Respiratory Journal*, 34(6), p.1470-1476.

Djelouat, S.(1990). Le diagnostique biochimique bactérien . Collection guides pratiques, microbiologie médicale , sciences et techniques ,Constantine , Algerie .p.118.

Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Cattoir, V., Barbeyrac, B. de, Barraud, O., B. et C., and Fumat, C. (2016). *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. 3ème édition. Elsevier Masson, Issy-les-Moulineaux, p.394-396.

Denis, F., Mounier, M. et Lawaud A. (1986). Progrès dans le diagnostic des meningites bactériennes. *Rev. Fr. Lab.* 148, p51-57.

E

Edslev, S. M., Clausen, M. L., Agner, T., Stegger, M., & Andersen, P. S. (2018). Genomic analysis reveals different mechanisms of fusidic acid resistance in *Staphylococcus aureus* from Danish atopic dermatitis patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(4), p.856-861.

El Anzi, O. (2014). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées au centre hospitalier ibn sina de rabat. Thèse de doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie –Rabat. Université Mohammed V – Souissi, Maroc.146p.

Elazhari, M.(2009). Activité de 16 Antibiotiques vis-à-vis des *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca (Maroc) et prévalence des souches résistantes à la méthicilline. Eur Sci Res. **30**(1), p. 128–37.

Elhamzaoui, S., Benouda, A., Allali, F., Abouqual, R., et Elouennass, M. (2009).

Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylocoques aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. Médecine et maladies infectieuses, **39**(12), p.891-895.

Eveillard, M. (2007). Politique de dépistage de *S.aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat. Ecole doctorale d'angers. Université d'Angers. France , p.160.

F

Falagas, M. E., Karageorgopoulos, D. E., Leptidis, J. et Korbila, I. P. (2013). MRSA in Africa: filling the global map of antimicrobial resistance. PloS one, **8**(7).p.11

Falugi, F., Kim, H.K., Missiakas, D.M., Schneewind, O.(2013). Role of Protein A in the Evasion of Host Adaptive Immune Responses by *S. aureus*. mBio.4 , p.60

Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K., Höök, M.(2014). Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nat. Rev. Microbiol*,**12**(1),p .49–62.

Foster, T.J., Hook, M. (1998).Surface protein adhesins of *S. aureus*.Trends Microbiol , **6**(12), p 484-488

Frédéric , J., Elvire, M.K., Audrey, M., Jean, D.C.(2008).les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. Revue Francophone des Laboratoires, 406, p. 51-59

G

Ghali, K & Mostefai, N.(2019). Isolement, identification et étude de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolés dans différents service de Lakhdaria, Université Akli Oulhaji –Bouira . p.35.

Ghanbari, F., Ghajavand, H., Havaei, R., Jami, M. S., Khademi, F., Heydari, L., Shahin, M. & Havaei, S. A. (2016). Distribution of erm genes among *S. aureus* isolates with inducible resistance to clindamycin in Isfahan, Iran. *Advanced biomedical research*, 5. p. 36.

Gheorghe, I., Popa, M. and Măruțescu, L. G. (2018). Molecular Features of Virulence and Resistance Mechanisms in Nosocomial and Community-Acquired *S.aureus*. *IntechOpen*, p. 92-108.

Gheraout-benchouk, S. (2013). Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* : son rôle dans l'infection du site opératoire. Thèse du Doctorat : Sciences Médicales. Constantine : Faculté de Médecine, p.226.

González-Martín, M. Alberto Corbera, J. Suárez-Bonnet, A. et Tejedor- Junco,T. (2020) .Virulence factors in coagulase-positive staphylococci of veterinary interest other than *S. aureus*, *Veterinary Quarterly*, **40**(1), p.118-131.

Gordon, R.J., et Lowy, F.D., (2008). Pathogenesis of methicillin-resistant *S. aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*. **46**(5), p. S350-S359.

Gross, M., Cramton, SE., Götz, F., Peschel, A.(2001). Key role of teichoic acid net charge in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces. *Infect. Immun* . **69**(5), p.3423–3426.

Guo, Y. Song, G. Sun, M. Wang, J. et Wang, Y. (2020). Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **10**(107).

Ghali, K. et Mostefai ,N.(2019) .Isolement, identification et étude de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolés dans différents service de Lakhdaria UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA . p. 26.

H

Hart, M.E., Hart, M.J., Roop, A.J.(2009). Genotypic and Phenotypic Assessment of Hyaluronidase among Type Strains of a Select Group of Staphylococcal Species. *Int .J. Microbiol.* 2009, p.6.

Hannachi, N., Habib, G., et Camoin-Jau, L. (2019). Effet de l'aspirine sur les interactions *Staphylococcus aureus*-plaquettes pendant l'endocardite infectieuse. *Frontiers in medicine*, 6, 217.

Hiramatsu, K., Cui, L., Kuroda M *et al.* (2001). The emergence and evolution of méthicilline resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 9 , p.486-493.

I

Institut national de la santé et de la recherche médicale(2019). Programme prioritaire de recherche antibiorésistance. p.06.

Ivain, L. (2017). Virulence et résistance aux antibiotiques du staphylocoque doré : Recherche des ARNm ciblés par deux ARN régulateurs. Thèse de doctorat. Université de Rennes 1, France.p.126.

Iwamoto, K., Moriwaki, M., Miyake, R., Hide, M.(2019). *S. aureus* in atopic dermatitis: Strain-specific cell wall proteins and skin immunity. *Allergol Int*,**68**(3) , p. 309-315.

J

Jokinen, E., Laine, J., Huttunen, R., Rahikka, P., Huhtala, H., Vuento, R., et al. (2017). Comparison of outcome and clinical characteristics of bacteremia caused by methicillin-resistant, penicillin-resistant and penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *Infect. Dis.* 49, p.493–500.

K

Kais, H. (2011). Epidémiologie des infections liées aux soins et à l'environnement dans les différents services de l'hôpital de Boufarik : résultats préliminaires de la prévalence de ce type d'infection nosocomiale, Mémoire de Master en microbiologie et parasitologie.

Université de Saad Dahleb de Blida 1, Faculté des sciences Agro-Vétérinaire et Biologie, p.66.

Katayama, Y., Baba, T., Sekine, M., Fukuda, M., Hiramatsu, K.(2013). Beta-Hemolysin Promotes Skin Colonization by *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol, 195 , p.1194–1203.

Kebaier, C., Chamberland, R.R., Allen, I.C., Gao, X., Broglie, P.M., Hall, J.D.(2012). *Staphylococcus aureus* α -hemolysin mediates virulence in a murine model of severe pneumonia through activation of the NLRP3 inflammasome. J Infect Dis, 205, p.807–8f7.

Khoshnood, S., Heidary, M., Asadi, A., Soleimani, S., Motahar, M., Savari, M.,(2019). A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *S.aureus*. Biomed. Pharmacother. 109, p. 1809–1818.

Kiptoo, K.V. (2012). Profil de sensibilité aux antibiotiques des isolats de *Staphylococcus aureus* des hémocultures, cathéters et des prélèvements de pus à l'hmimv – rabat. Thèse de doctorat. Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie –rabat, Maroc.p.76.

Klein, E. Y. Mojica, N. Jiang, W. Cosgrove, S. E. Septimus, E. Morgan, D. J. (2017). Trends in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* hospitalizations in the United States, 2010–2014. *Clin. Infect. Dis.* 65,p. 1921–1923.

Kloos, W. E. Zimmerman, R. J. etSmith, R. F. (1976). Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Appl. Environ. Microbiol.*, 31(1), p.53-59.

Kong, E. F. Johnson, J.K. Jabra-Rizk, M. A. (2016). Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Enemy amidst Us. PLoS Pathog 12(10), p.165.

Koreen, L., Ramaswamy, S.V., Graviss, E.A., Naidich, S., Musser, J.M., Kreiswirth, B.N.(2004). spa Typing Method for Discriminating among *Staphylococcus aureus* Isolates: Implications for Use of a Single Marker To Detect Genetic Micro- and Macrovariation. J Clin Microbiol.42, p. 792–799.

L

Lakhundi, S., and Zhang, K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. Clin. Microbiol. Rev.31, p. 8

- Larquey, M., & Mahé, E. (2018).** Infections cutanées à staphylocoque et streptocoque chez l'enfant. *Perfectionnement en Pédiatrie*, **1**(1), p.25-31.
- Lazaris, A., Coleman, D. C., Kearns, A. M., Pichon, B., Kinnevey, P. M., Earls, M. R., et al. (2017).** Novel multiresistance cfr plasmids in linezolidresistant methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* and vancomycinresistant *Enterococcus faecium* (VRE) from a hospital outbreak: co-location of cfr and oprA in Vre. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, p.3252–3257.
- Le loir, Y. et Gautier, M. (2010).** Identification de l'Espèce au Sein du Genre. In: *Staphylococcus aureus*. Paris: Tec et Doc, p.8- 207
- Lebeaux, D., Ghigo, J.M.(2012).** Management of biofilm-associated infections: what can we expect from recent research on biofilm lifestyles. *Médecine Sci. MS* ,28(8–9),p.727–739.
- Lekshmi, M., Ammini, P., Adjei, J., Sanford, L. M., Shrestha, U., Kumar,S., et al. (2018).** Modulation of antimicrobial efflux pumps of the major facilitator superfamily in *Staphylococcus aureus*. *AIMS Microbiol.* **4**, p.1–18.
- Le Saux, N. (2018).** Le diagnostic et la prise en charge des infections ostéoarticulaires aiguës chez les enfants. *Paediatrics & Child Health*, **23**(5), 344-352.
- Lina, G., Quaglia, A., Reverdy, M. E., Leclercq, R., Vandenesch, F., & Etienne, J. (1999).** Distribution of genes encoding resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramins among staphylococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **43**(5), 1062- 1066.
- Licitra, G. (2013).** Etymologia: *Staphylococcus*. *Emerg. Infect.* **19**(9): 1553.
- Louergue, P. et Tourret, S.(2003).** Le staphylocoque doré résistant à la méticilline d'origine communautaire. *DES de Bactériologie, Virologie et Hygiène Hospitalière*.p23
- Lowy, F.D (2003).** Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest.* **111**, p.1265-1273.

M

- Madigan, M.T., Martinko, J.M . et Brock, T.D.(2007).** Brock biologie des microorganismes. 1ère édition . Paris: Pearson Education . p.46.
- Mangin. L.(2016).** Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. *Sciences pharmaceutiques. Université de Lorraine* , France. p128.

- Markus, H. R., & Kitayama, S. (2010).** Cultures and selves: A cycle of mutual constitution. *Perspectives on psychological science*, **5**(4), p.420-430
- Marchal, N. et Bourdon, J.L. (1973).** Milieux de culture et identification biochimique des bactéries. DOIN. Paris. p.99-105.
- Martinez, N., Luque, R., Milani, C., Ventura, M., Banuelos, O., and Margolles, A. (2018).** A gene homologous to rRNA methylase genes confers erythromycin and clindamycin resistance in *Bifidobacterium breve*. *Appl. Environ. Microbiol.* **84**, p.166–176.
- Mastouri, M.M., Nour, B. M., Ben Nejma, A., Bouallegue, C., Hammami, M., Kheder, M (2006).** Résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline : détection des premières souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides en Tunisie. *Pathologie Biologie*. **54**, p.33–36.
- Mann, P.A., Müller, A., Wolff, K.A., Fischmann, T., Wang, H., Reed, P., (2016).** Chemical Genetic Analysis and Functional Characterization of Staphylococcal Wall Teichoic Acid 2-Epimerases Reveals Unconventional Antibiotic Drug Targets. *PLoS Pathog* **12**(5), p.52
- Morgene, F.M.(2018).** Modélisation in vitro de la colonisation nasale à *Staphylococcus aureus* ; interactions avec l'infection à rhinovirus. Thèse de doctorat. Université de Lyon France, 23-25 p
- Morgan, M., Salmont, R., Keppiet, N., Evans-Williams, D., Hosein, I., & Looker, D. N.(1999).** All Wales surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): the first year's results. *Journal of Hospital Infection*, **41**(3), 173-179.
- Mölkänen, T., Tyynelä, J., Helin, J., Kalkkinen, N., Kuusela, P.(2002).** Enhanced activation of bound plasminogen on *Staphylococcus aureus* by staphylokinase. *FEBS Lett* **517**, p. 72–78.
- Muller, A., Mauny, F., Bertin, M., et al (2003).** Relationship between spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antimicrobial use in a French university hospital. *Clin Infect Dis*, **36**, p. 971-978
- Mrich, H.(2018).** Profil De L'antibio-Résistance De L'infection Urinaire Nosocomiale En Urologie Expérience Du Service D'urologie CHUMohammed VI ,Thèse de doctorat. Faculté de médecine et de pharmacie, Marrakache . p.3

N

Nandy, P. Roy, S. Thakur, A. R. Chaudhuri, S.R.(2013). Comparative study on characterization of three staphylococcal isolates from varied origin. JOURNAL OF CULTURE COLLECTIONS,6, p. 52-60.

Nanra, J.S., Buitrago, S.M., Crawford, S., Ng, J., Fink, P.S., Hawkins, J.,(2013). Capsular polysaccharides are an important immune evasion mechanism for *Staphylococcus aureus*. Hum Vaccines Immunother, 9, p. 480–487.

Newsom, S.W.B. (2008). Ogston's coccus. The journal of hospital infection ,70(4),p.369-72

Nouwen, J.L., Ott, A., Kluytmans-Vandenbergh MF et al (2004). Predicting the *Staphylococcus aureus* nasal carrier state : derivation and validation of a “culture rule”. Clin Infect Dis , 39, p.11–806.

O

O’Riordan, K., Lee, J.C.(2004). *Staphylococcus aureus* Capsular Polysaccharides. Clin Microbiol Rev, 17, p. 218– 34.

O’Toole, G., Kaplan, H.B., Kolter, R.(2000). Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* , 54, p. 49–79.

Ogawara, H. (2019). Comparison of Antibiotic Resistance Mechanisms in Antibiotic-Producing and Pathogenic Bacteria. *Molecules*, 24(19), p. 3430.

Ogston, A.(1881). Report upon Micro-Organisms in Surgical Diseases . Br Med,1(1054) , p.369 b2 – 75.

Organisation mondiale de la santé (2017). Résistance aux antibiotiques . <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> . consulté le [06/04/2020].

Oliveira, D., Borges A. et Simões M.(2018). *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases, *Toxins* ,10, p. 252.

P

Pascual, D.B.(2015). Líneas genéticas, virulencia y resistencia a antibióticos en *Staphylococcus aureus* de diferentes orígenes. Análisis de marcadores de adaptación al

huésped y comportamiento en *Caenorhabditis elegans*. Thèse de doctorat, Université de la Rioja, Espagne. p.62.

Patel, M., Waites, K.B., Hoesley, C.J., Stamm, A.M., Canupp, K.C., Moser, S.A (2008).Emergence of USA300 MRSA in a tertiary medical centre: implications for epidemiological studies. *J Hosp Infect.* 68, p.208–213.

Patti, J.M., Bremell, T., Krajewska-Pietrasik, D., Abdelnour, A., Tarkowski, A., Rydén, C.(1994). The *Staphylococcus aureus* collagen adhesin is a virulence determinant in experimental septic arthritis. *Infect Immun*, **62**(152). p25

Perez, P.(2013). Typage de *staphylococcus aureus* par MLVA : étude de faisabilité de la détection par HRM,p. 64-76

Pontieri, E. (2018). *The Staphylococcal Hemolysins.* In *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress.* 1ère édition. Elsevier Inc.

R

Rebiahi, S. A. (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement. Université de Tlemcen, Algérie. p.131

Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des bactéries aux antibiotiques(2018).Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques,18 ème rapport d'évaluation (de janvier à décembre 2017) .p.141-157

Reynolds, P. E., & Brown, D. F. (1985). Penicillin-binding proteins of β -lactam-resistant strains of *Staphylococcus aureus*: effect of growth conditions. *FEBS letters*, **192**(1), 28-32.

Robert, D. (2013). *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de doctorat . Université d'Angers, France, p.126

S

- Sahrooui, M. et Harrat, N.E (2017).** Épidémiologie des infections nosocomiales bactériennes dans l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier spécialisé Mère/Enfant de Mostaganem. Mémoire de Master, Université Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Algérie, p.55.
- Saïdani, M., Boutiba, I., Ghozzi, R., Kammoun, A. et Ben Redjeb, S. (2006).** Profil bactériologique des bactériémies à germes multirésistants à l'hôpital Charles-Nicolle de Tunis. *Medecine et Maladies Infectieuses*, **36**(3), p. 163-166.
- Schaumburg, F ., Alabi A.S ., Peter, G. et Becker K.(2014).** New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Africa, *Clin Microbiol Infec*,20, p. 589–596.
- Shang, W., Hu, Q., Yuan, W., Cheng, H., Yang, J., Hu, Z., et al. (2016).** Comparative Fitness and Determinants for the Characteristic Drug Resistance of ST239-MRSA , Strains Isolated in China, *Microb Drug Resist*, **22**(3), p.185-92.
- Schlefer, K.H. et Bell, J. A. (2009).** Staphylococcaceae .In: Bergy's Manuel of systematic Bacteriology.2ème Ed. New York: Springer, p.1-21.
- Schulte, R. H., and Munson, E. (2019).** *Staphylococcus aureus* resistance patterns in wisconsin: 2018 surveillance of wisconsin organisms for trends in antimicrobial resistance and epidemiology (SWOTARE) program report. *Clin. Med. Res.* 17, p.72–81.
- Seifi, S., and Khoshbakht, R. (2016).** Prevalence of tetracycline resistance determinants in broiler isolated Escherichia coli in Iran. *Br. Poult. Sci.* 57, p.729–733.
- Seiti Yamada Yoshikawa, F., Feitosa de Lima, J., Notomi Sato, M., Álefe Leuzzi Ramos, Y., Aoki, V., Leao Orfali, R.(2019).** Exploring the Role of *S.aureus* Toxins in Atopic Dermatitis. *Toxins (Basel)*,**11**(6), p. 321.
- Sewell EW, Brown ED.** Taking aim at wall teichoic acid synthesis: new biology and new leads for antibiotics. *J Antibiot (Tokyo)*. **67**(1): 43–51.
- Sergelidis, D. & Angelidis, A. S. (2017).** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food- borne pathogen. *Letters in Applied Microbiology*, **64**(6), 409-418. https://www.dictionnairemedical.net/841_escarboucle.html consulté le [20/06/2020].
- Song, J.H, Hsueh, P.R, Chung, D.R, Ko, K.S, Kang, C.I, et al (2011).** Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: an ANSORP study. *J Antimicrob Chemother* 66, p.1061–1069.

T

- Tacconelli, E.1 et Cataldo, M.A (2007).** Antimicrobial therapy of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection. *Expert Opin Pharmacother.* 8(15), p.2505-2518.
- Tasse, J. (2017).** Apport de l'antibiofilmogramme et de la mesure de la capacité de formation du biofilm dans la prise en charge des infections osteo-articulaires a staphylocoques. Thèse de doctorat. L'Université Claude Bernard Lyon 1, France. p.245.
- Tavares, A., Nielsen, J.B., Boye, K., Rohde, S., Paulo, A.C., Westh, H.(2014).** Insights into Alpha-Hemolysin (HLA) Evolution and Expression among *Staphylococcus aureus* Clones with Hospital and Community Origin. Fitzgerald JR, editor. PLoS ONE,9.
- Teggar, F. (2013).** Etude de la résistance des souches de *Staphylococcus aureus* isolées en milieu hospitalier, Mémoire de Master en microbiologie. Université de Saad Dahleb de Blida 1, Faculté des sciences de la nature et de la vie, p.57.
- Tchougoune, M.L.(2007).**Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du Point G. Thèse de doctorat , Université de Bamako Mali. p.22.
- Tille, P.M.(2014).** Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology,13 éme edition .p.185.
- Tong, S.Y., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L., Fowler Jr, V.G. (2015).** Infections à *Staphylococcus aureus* : épidémiologie, physiopathologie, manifestations cliniques et prise en charge . *Clin. Microbiol.* 28, p. 603 – 61.
- Touaitia, R. (2016).** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance, thèse de doctorat en microbiologie. Annaba, Faculté des sciences, Badji Mokhtar. p. 106.
- Truong-Bolduc, Q. C., Wang, Y., & Hooper, D. C. (2018).** Tet38 efflux pump contributes to fosfomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(8), p.18.

V

- Vestergaard, M., Frees, D., and Ingmer, H. (2019).** Antibiotic resistance and the MRSA problem. *Microbiol. Spectr.* 7(2), p. 39-57.

Vitko, N. P. et Richardson, A. R. (2013). Laboratory Maintenance of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Current protocols in microbiology*, 28(1), p. 9C-2.

Von Aulock, S., Morath, S., Hareng, L., Knapp, S., van Kessel, K.P., van Strijp, J.A.(2003). Lipoteichoic acid from *S.aureus* is a potent stimulus for neutrophil recruitment. *Immunobiology*. 208, p.422.

Von Eiff, C., Taylor, K.L., Mellmann, A., (2007). Distribution of capsular and surface polysaccharide serotypes of *S.aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 58, p. 297–302.

W

Wang, C., Fang, R., Zhou, B., Tian, X., Zhang, X., Zheng, X., Zhang, S, Dong, G., Cao, J. & Zhou, T. (2019). Evolution of resistance mechanisms and biological characteristics of rifampicin-resistant *Staphylococcus aureus* strains selected in vitro. *BMC microbiology*, 19(1), 1-8.

Walrath, J. J., Hennrikus, W. L., Zalonis, C., Dyer, A. M. et Latorre, J. E. (2016). The Prevalence of MRSA Nasal Carriage in Preoperative Pediatric Orthopaedic Patients *Advances in orthopaedics*. p.45.

Y

Yang, J. J., Cheng, A., Tai, H. M., Chang, L. W., Hsu, M. C., and Sheng, W. H. (2019). Selected mutations by nemonoxacin and fluoroquinolone exposure among relevant gram-positive bacterial strains in Taiwan. *Microb. Drug Resist.* 26, p.110–117.

Yoshikawa, F.S.Y., de Lima, F.J., Sato, M.N et al .(2019). Exploring the Role of *Staphylococcus aureus* Toxins in Atopic Dermatitis. *P.M.C* . 11(6).p.16.

Z

Zarate, S. G., Morales, P., Swiderek, K., Bolanos-Garcia, V. M., and Bastida, A. (2019). A molecular modeling approach to identify novel inhibitors of the major facilitator superfamily of efflux pump transporters. *Antibiotics*, 8 (1) , p. 25 .